

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura

**Evaluación de Insulinemia
(como índice de Resistencia insulínica)
en pacientes que presentan valores límites
(borderline) glucídicos y lipídicos**

Trabajo en modalidad de Práctica Optativa - 2024

Carrera de Bioquímica



Alumna

Rivas, Micaela Magalí

Director

Sáez Cassanelli, José Luis

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, que siempre me han brindado su apoyo incondicional para poder cumplir todos mis objetivos personales y académicos. Son mi gran sostén de vida y quienes me apoyan a perseguir mis metas. También, son los que me han brindado el soporte material y económico para poder concentrarme en los estudios y nunca abandonarlos.

A las autoridades del LCRyP, institución donde se realizó el presente trabajo. Gracias Dr. Gerardo Andino, Dr. Pablo Kawerin, y Bqca María de los Ángeles Sosa, por la predisposición y el espacio brindado a los alumnos de la carrera de Bioquímica.

A los miembros del jurado y revisores del trabajo: Prof. Pilar, Sonia; Prof. Sotelo, Dora de las Mercedes; Prof. Serrano, Claudia Patricia; que me han acompañado durante el cursado de mis últimas materias. Gracias por compartir su conocimiento, y por su constante ánimo, no solo en el aspecto académico, sino también en el personal. Además, agradezco a todos aquellos docentes que dejaron su huella en mí, durante los años de carrera, e impulsaron a seguir por esta hermosa profesión.

Finalmente, al Dr. José Luis Sáez Cassanelli, gracias por su apoyo constante, por su dedicación, paciencia y correcciones, por compartir su experiencia y conocimientos para la realización de este trabajo.

.

ÍNDICE

GLOSARIO.....	1
RESUMEN.....	4
INTRODUCCIÓN.....	5
Resistencia a la Insulina (RI).....	5
Insulina.....	6
Péptido C.....	8
Receptor de insulina.....	9
Acciones metabólicas de la INS.....	12
Determinación de INS.....	14
Inmunoensayos (Generalidades):.....	14
Quimioinmunoanálisis:.....	15
Estudio de la RI por medio del ÍNDICE HOMA:.....	17
OTROS FACTORES ESTUDIADOS.....	17
Glucosa.....	17
Triglicéridos (TG).....	19
Determinación de Glucemia y Triglicéridos- Fotocolorimetría.....	20
TRASTORNOS METABÓLICOS.....	21
1. Obesidad.....	21
2. Enfermedad de hígado graso no alcohólico (EHGNA o HG).....	23
3. Síndrome metabólico (SM).....	26
4. Hipertensión Arterial (HTA).....	27
5. Diabetes Mellitus tipo 2 (DM-2).....	28
Fisiopatología de la Insulinorresistencia (RI).....	29
Acumulación ectópica de lípidos y RI.....	32
Inflamación y RI.....	34
Disfunción mitocondrial y RI.....	35
Estrés del retículo endoplásmico y RI.....	36
OBJETIVOS.....	38
DISEÑO METODOLÓGICO.....	38
PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS.....	40
ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	41
DISCUSIÓN.....	49
CONCLUSIÓN.....	54
REFERENCIAS.....	55

GLOSARIO

Abreviatura	En Español	En Inglés
AC	Anticuerpo	<i>Antibody</i>
Ag	Antígeno	<i>Antigen</i>
AG	Ácido graso	<i>Fatty acid</i>
AGL	Ácido graso libre	<i>Free fatty acid</i>
ATP	Adenosín trifosfato	<i>Adenosine triphosphate</i>
CL	Colesterol libre	<i>Free cholesterol</i>
DAG	Diacilglicerol	<i>Diacylglycerol</i>
DB-1	Diabetes mellitus tipo 1	<i>Diabetes mellitus type 1</i>
DM-2	Diabetes mellitus tipo 2	<i>Diabetes mellitus type 2</i>
ECNT	Enfermedades crónicas no transmisibles	<i>Chronic noncommunicable diseases</i>
EHGNA	Enfermedad de hígado graso no alcohólico	<i>Nonalcoholic fatty liver disease</i>
EHNA	Esteatohepatitis no alcohólica	<i>Nonalcoholic steatohepatitis</i>
ECV	Enfermedad cardiovascular	<i>Cardiovascular disease</i>
FATP	Proteína transportadora de ácidos grasos	<i>Fatty acid transport protein</i>
FOXO	Factor de transcripción	<i>Forkhead transcription factors</i>
GLU	Glucosa	<i>Glucose</i>
G6PC	Glucosa-6-fosfatasa	<i>Glucose-6-phosphatase</i>
GSK3 \square	Glucógeno sintasa cinasa 3 beta	<i>Glycogen synthase kinase</i>
HC	Hidratos de carbono	<i>Carbohydrates</i>
HG	Hígado graso	<i>Fatty liver</i>

HTA	Hipertensión arterial	<i>Arterial hypertension</i>
HTG	Hipertrigliceridemia	<i>Hypertriglyceridemia</i>
IMC	Índice de masa corporal	<i>Body mass index</i>
INS	Insulina	<i>Insulin</i>
IRS	Sustrato del receptor de insulina	<i>insulin receptor substrate</i>
LPA	Ácido lisofosfatídico	<i>lysophosphatidic acid</i>
LPL	Lipoproteína lipasa	<i>Lipoprotein lipase</i>
LRT	Lipoproteínas ricas en triglicéridos	<i>Lipoproteins rich in triglycerides</i>
MAPK	Cinasas activadas por mitógenos	<i>Mitogen-activated kinases</i>
OB	Obesidad	<i>Obesity</i>
PDK	Piruvato deshidrogenasa cinasa	<i>pyruvate dehydrogenase kinase</i>
PGH	Producción de glucosa hepática	<i>Hepatic glucose production</i>
PEPCK	Fosfoenolpiruvato carboxilasa	<i>Phosphoenolpyruvate carboxylase</i>
PIP3	Fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato	<i>Phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate</i>
PI3K	Fosfatidilinositol 3-cinasa	<i>Phosphatidylinositol 3-kinase</i>
PL	Fosfolípidos	<i>Phospholipids</i>
PPAR γ	Proliferador de peroxisomas	<i>Peroxisome proliferator</i>
PKC	Proteína cinasa C	<i>Protein kinase c</i>
PTEC	Proteína transportadora de ésteres de colesterol	<i>Cholesterol ester transport protein</i>

PTOG	Prueba de tolerancia oral a la glucosa	<i>Oral glucose tolerance test</i>
QM	Quilomicrones	<i>Chylomicrons</i>
RER	Retículo endoplásmico rugoso	<i>rough endoplasmic reticulum</i>
RI	Resistencia a la Insulina	<i>Insulin Resistance</i>
SM	Síndrome metabólico	<i>Metabolic syndrome</i>
SREBP-1c	Proteína 1 de unión a los elementos reguladores de esteroles	<i>Sterol regulatory element binding protein 1</i>
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad	<i>very low density lipoprotein</i>

RESUMEN

En los últimos años, se ha visto un aumento significativo en la prevalencia de enfermedades crónicas y trastornos metabólicos diversos en adultos jóvenes, adolescentes y niños. Resulta imprescindible entonces, estudiar la relación que existe entre una buena nutrición y la salud, para entender que los estilos de vida saludables pueden mejorar la esperanza de vida, reduciendo el riesgo de desarrollar enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT). La resistencia a la insulina (RI) se establece por una respuesta biológica alterada y refractaria de los tejidos diana a la estimulación de la insulina (INS), lo que resulta en una hiperinsulinemia compensatoria por parte de las células β del páncreas. Si la RI persiste en el tiempo, se verifican desórdenes de los metabolismos glucídico y lipídico. Puede producirse entonces el “síndrome metabólico (SM)”, o desarrollar otras patologías como: enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA o HG), Hipertensión arterial (HTA) (u otras enfermedades cardiovasculares), Obesidad (OB), y Diabetes Mellitus tipo 2 (DM-2). Se cree que la RI precede al desarrollo de la DM-2 entre 10 y 15 años (Freeman et al. 2023). En este sentido, la RI puede utilizarse como un indicador clave y precoz del desarrollo de algunas ECNT. El presente trabajo, de tipo retrospectivo, se basa en la investigación de la RI (mediante el dosaje de INS y cálculo del índice HOMA IR), y de algunos factores (Glucemia y Trigliceridemia) asociados a enfermedades metabólicas (EM). Se relevaron los datos bioquímicos de pacientes que acudieron durante los meses de enero y septiembre del año 2023, al Laboratorio Central de Redes y Programas de Corrientes (LCRyP). Este estudio representa, en escala pequeña en nuestra sociedad, una muestra de la necesidad de reevaluación de las “pautas saludables” y detecciones bioquímicas que identifiquen la RI. Se evitaría así, desde la niñez, la progresión de EM en adultos (cada vez más jóvenes). En este sentido, los resultados obtenidos parecieran indicar que el dosaje en ayunas de insulinemia constituye el mejor indicador de la existencia de RI.

INTRODUCCIÓN

Resistencia a la Insulina (RI)

La RI es una condición caracterizada por una menor actividad de la hormona insulina (INS) a causa de la refractariedad a la misma, a nivel celular. Puede expresarse en diferentes vías metabólicas, específicamente a nivel del metabolismo glucídico, lipídico y proteico. Los órganos más afectados son: hígado, músculo y tejido adiposo, aunque también pueden verse involucrados otros órganos (Santos Lozano, 2022). La resistencia de los tejidos a la acción de la INS induce el mantenimiento y elevación del nivel de la glucemia (GLU). Así es que el páncreas, por un modelo compensatorio dinámico, libera mayor cantidad de INS, para subsanar la hiperglucemia existente (James et al. 2021). En el establecimiento de la RI participan dos grandes grupos de factores: los genéticos (condición o susceptibilidad adquirida por herencia), y los epigenéticos (susceptibilidad individual socio-medio-ambiental). Éstos últimos toman mayor relevancia día a día (Marusic et al. 2021).

Los individuos con RI ya establecida presentan hiperinsulinemia, es decir que los niveles de INS en sangre son más altos que lo normal. Puede que este incremento se encuentre en relación (estadíos posteriores) o no (RI incipiente), con la cantidad de GLU en ayuno. Esta hiperinsulinemia se establece por un intento compensatorio frente a la RI en los tejidos periféricos, para normalizar los niveles de GLU en sangre. En humanos con RI, la disfunción de las células β del páncreas, es el primer defecto demostrable con limitación de la capacidad de compensación en presencia de RI. Así, cuando el páncreas no puede generar primariamente un exceso de INS, se genera un defecto importante en la homeostasis de la GLU en todo el cuerpo, que se caracteriza por hiperglucemia (en ayunas) e intolerancia a la glu (en la prueba oral de tolerancia a la Glu- PTOG) (Miguel Soca, 2010). A nivel molecular, la RI se caracteriza por la alteración de la capacidad de la INS para

activar el transporte de GLU en las células musculares y adiposas debido a una falla del sistema de transporte de GLU en esos tejidos. Además, una característica de la RI es la incapacidad para suprimir la producción de GLU hepática debido en gran parte a una elevación sostenida de la gluconeogénesis. Entre las principales consecuencias metabólicas relacionadas con esta condición están: hiperglucemia, hipertensión, dislipidemia, adiposidad visceral, marcadores inflamatorios elevados, disfunción endotelial y estado protrombótico (Wysham y Shubrook, 2020).

Insulina

La INS es una hormona de naturaleza proteica, y fue la primera proteína cuya secuencia de aminoácidos se determinó con exactitud. Hoy día, también se la obtiene altamente purificada de extractos pancreáticos (Blanco, A y Blanco, G, 2016).

La molécula está constituida por dos cadenas polipeptídicas y tiene una masa cercana a 6.000 Da. La cadena A, está compuesta por 21 aminoácidos; mientras que la cadena B posee 30 aminoácidos. Ambos polipéptidos están unidos por dos puentes disulfuro. Además, se establece un tercer puente disulfuro (intracatenario) entre dos cisteínas de la cadena A ubicadas en posición 6 y 11. La presencia de estas uniones disulfuro resulta indispensable para la actividad biológica de la hormona. Las estructuras terciarias y cuaternarias de la INS son importantísimas para su función, es decir, determinan su actividad. La estructura descripta corresponde a una unidad molecular de la hormona. En el páncreas es frecuente encontrarla como polímeros (dímeros o hexámeros) que contienen Zinc. El hexámero está compuesto por tres dímeros asociados a dos iones Zn^{2+} por enlaces de coordinación (Posner Barry, 2017).

En el retículo endoplásmico rugoso (RER) de las células □ del páncreas se sintetiza la preproinsulina (proteína precursora de 111 aminoácidos). Esta proteína, cuando penetra en la cavidad del RER, inmediatamente pierde el péptido líder (de 26 aminoácidos en su

extremo N-terminal). Se forma así, la proinsulina (de 85 aminoácidos), proteína prácticamente inactiva. Los primeros 30 aminoácidos de esta proteína pertenecen a la cadena B, y los últimos 21 aminoácidos a la cadena A. Entre ambos segmentos se extiende una porción de 34 aminoácidos, que constituye el llamado “péptido C” o de conexión. Luego, la proinsulina es englobada en vesículas y transportada al aparato de Golgi, donde por sucesivas hidrólisis (catalizadas por peptidasas), liberan: la INS activa, el péptido C, y dos péptidos ubicados en los extremos del péptido C (Fig. 1). Al llegar a la sangre los gránulos de secreción, los hexámeros de INS se disocian. Esta es la razón por la cual la INS, en plasma, se encuentra como monómero (Blanco, A. y Blanco, G, 2016).

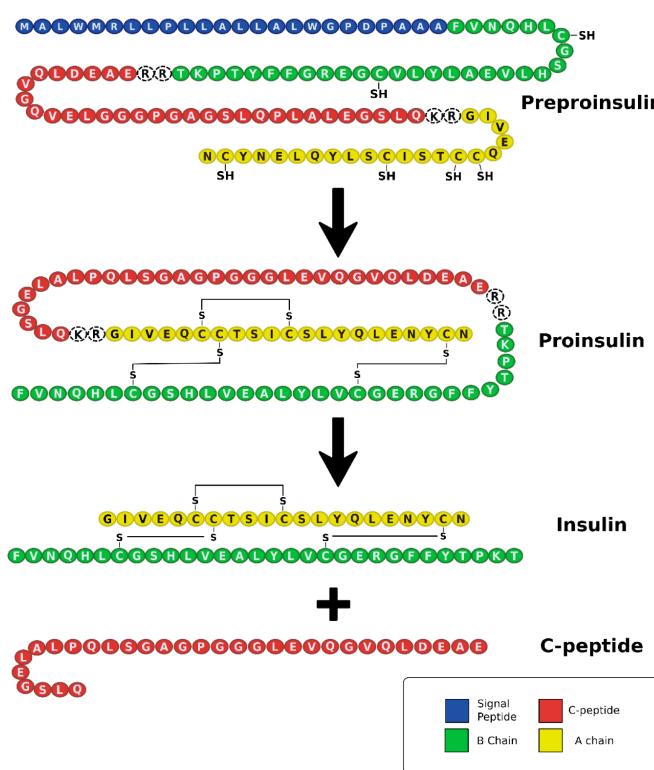


Figura 1: Nota. Péptido C como terapia para la diabetes mellitus, por Washburn RL, Mueller K, Kaur G, Moreno T, Moustaid-Moussa N, Ramalingam L, Dufour JM., 2021. Biomedicinas.

Péptido C

Una vez secretados, tanto la INS como el péptido C, se dirigen al hígado. En ese órgano, la INS se une a sus receptores e inicia la captación de GLU, la inhibición de la gluconeogénesis, la glucogenólisis, y la cetogénesis. Todos estos procesos se llevan a cabo en 5 a 10 minutos. Transcurrido ese tiempo, la INS, se degrada. Por otra parte, el péptido C, tiene una degradación limitada en el hígado, la cual se completa en los riñones. Así, la vida media del péptido C es de alrededor de 30 a 35 minutos, mayor a la de INS. Tanto la INS como el péptido C se secretan en concentraciones equimoleculares, motivo por el cuál al péptido C, se lo utiliza como medida de la reserva secretora de INS (Wei et al. 2021).

El péptido C puede unirse a las membranas celulares y ejercer funciones biológicas, antioxidantes y antiapoptóticas. También, puede regular las respuestas inflamatorias o la transcripción celular, a través de la internalización. La deficiencia de INS se asocia con la deficiencia de péptido C, en la diabetes tipo 1 (DB-1), debido a la desaparición de las células β o de su función. Un nivel de péptido C en ayunas inferior a 0,6 ng/ml (valor de ref.: 0,5 a 2,0 ng/ml), es compatible con insuficiencia de las células β , y predice la necesidad de tratamiento con aporte exógeno de INS. Por otra parte, la DM-2 se manifiesta clínicamente cuando hay una falla de las células β . El resultado en la DM-2 se verifica por una alteración de la secreción de INS y péptido C, caracterizadas por la hiperglucemia, tanto en ayunas como posprandial (Venugopal et al. 2023).

En el inicio de la DM-2, la secreción de péptido C es mayor que la fisiológica. Y, en esta situación el péptido C puede ejercer un efecto proinflamatorio, dañando el endotelio vascular y promoviendo la aparición de lesiones vasculares. Así es que, tanto la deficiencia como la secreción excesiva de péptido C pueden promover la aparición de complicaciones diabéticas, aunque los mecanismos subyacentes puedan diferir (Chen et al. 2023).

Receptor de insulina

La INS inicia su mecanismo de acción mediante su unión inicial al receptor específico, que se encuentra ubicado en la membrana plasmática de las células efectoras. Este receptor, es una glicoproteína integral de membrana perteneciente a la familia de receptores de factores de crecimiento. Tiene actividad tirosina quinasa a través de su porción citosólica. Es un heterotetrámero compuesto por dos subunidades α y dos subunidades β , ambas glicosiladas y unidas por puentes disulfuro. La INS se une a las subunidades α , que se sitúan en el exterior de la membrana. Mientras que las subunidades β atraviesan la bicapa lipídica, y emergen a ambos lados de ésta. En la porción citosólica de las subunidades β se encuentra el sitio activo de la proteína tirosina quinasa. La subunidad α funciona como un inhibidor alostérico de la subunidad β , es decir que la enzima permanece inactiva cuando el receptor está desocupado (Gutiérrez Rodelo et al. 2017).

Los receptores de INS están presentes en todos los tejidos de mamíferos, con un número variable desde 40 por célula en glóbulos rojos hasta muchos miles en hepatocitos y adipocitos. Cuando la INS se une a los sitios de unión del receptor en las subunidades α , cambia su conformación, que se transmite a las subunidades β , activando así la tirosina quinasa. Una vez activado el receptor, adquiere la capacidad de autofosforilarse y de catalizar la fosforilación de residuos de tirosina en otras proteínas que contienen dominios SH₂, los cuales se unen al receptor (Blanco, A y Blanco, G, 2016). De esta manera, se inicia una cascada de señalización en la que participan de forma coordinada varias interacciones proteicas. Las dos vías principales de transducción que se activan por acción de la INS, son: A. La vía de la fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3K) (Figura 2); y, B. la vía de las cinasas activadas por mitógenos (MAP cinasas) (Figura 3). Entre las dos vías se encargan de regular la mayoría de las acciones de la INS, relacionadas a la regulación del metabolismo

energético, de la expresión genética y de efectos mitogénicos (Olivares Reyes y Arellano Plancarte, 2008).

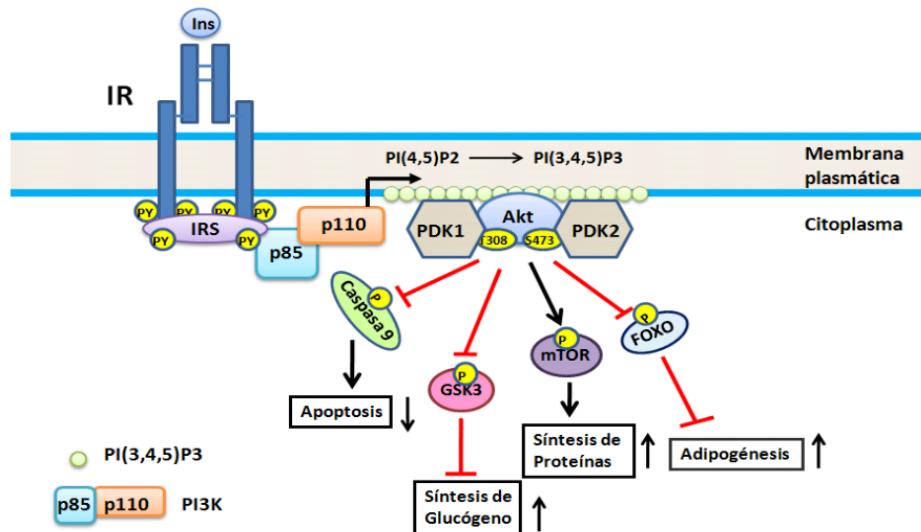


Figura 2: Vía de señalización PI3K/Akt

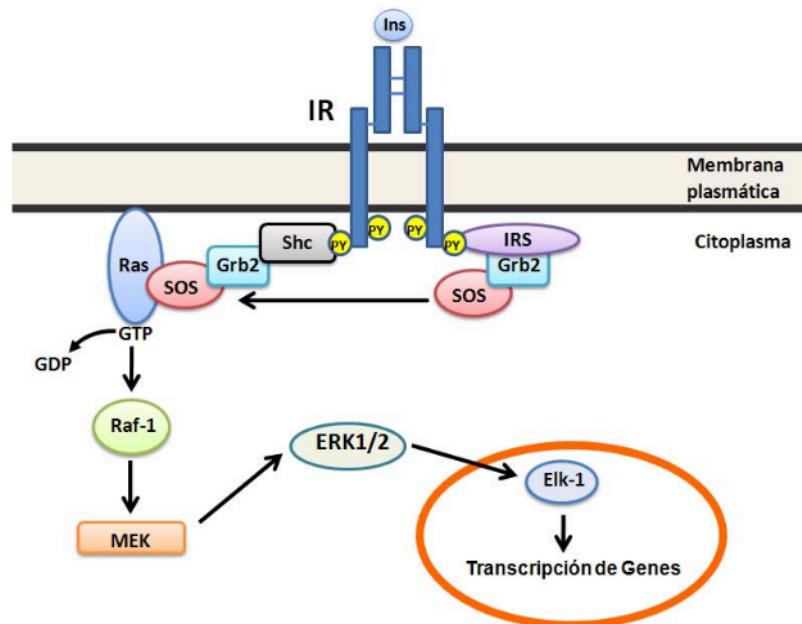


Figura 3: Vía de señalización MAPK

Seguidamente al aumento de GLU, se estimula la liberación de INS, y se ponen en marcha sistemas de señales. El receptor recluta y fosforila principalmente dos proteínas adaptadoras: IRS y Shc. Dichas proteínas, organizan complejos moleculares que desencadenan diferentes cascadas de señalización intracelular. Entre las vías mediadas por IRS se encuentran la de PI3K/Akt. Es decir, que todas las respuestas post-receptor que se inician por la unión de la INS a su receptor son mediadas como consecuencia de la activación de varias vías de transducción. Estas incluyen la activación de la fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K), la cual involucra una unión con sustratos del receptor de la INS (de los cuales hay cuatro: IRS1, IRS2, IRS3 y IRS4) activados por el dominio tirosina cinasa del receptor (Batista et al. 2022). PI3K fosforila fosfolípidos de membrana siendo uno de los principales productos el fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PIP3). PIP3 se une a los dominios PH de la cinasa dependiente de PIP3 (PDK) permitiendo su activación. Por su lado, PDK fosforila y activa la proteína cinasa B (también conocida como Akt). Akt/PKB es una proteína cinasa específica de Ser/Thr que regula múltiples procesos biológicos incluyendo el metabolismo de GLU, apoptosis, expresión de genes y la proliferación celular. La estimulación de la cascada de señalización de Akt/PKB a través de IGF/IRS/PI3K activa corriente abajo una serie de objetivos anabólicos incluyendo mTOR, además de inhibir vías catabólicas que incluyen la glucógeno sintasa cinasa 3 β (GSK3 β , glycogen synthase kinase 3 β) y los factores de transcripción FOXO (forkhead transcription factors) y sus genes atróficos atrogin-1 y MuRF1 (Schiaffino y Mammucari, 2011).

Resumiendo, esta vía tiene un papel crucial en la activación y la regulación de diversos eventos metabólicos, como son el transporte de GLU y la síntesis de glucógeno, proteínas y lípidos. Así, Akt participa en la translocación de la proteína transportadora de glucosa-4 (GLUT4) de vesículas intracelulares a la superficie celular para incrementar la captura de GLU. Además, la proteína Shc, a su vez se asocia a la activación de la vía de las

cinasas activadas por mitógeno (MAPK), y de este modo regula funciones proliferativas y de crecimiento. La INS también participa en la inhibición de la gluconeogénesis y favorece la síntesis de glucógeno, lípidos y proteínas en el tejido hepático, adiposo y muscular, respectivamente (Vázquez Jiménez et al. 2016).

Acciones metabólicas de la INS

La INS es la principal hormona anabólica del organismo. Controla funciones energéticas cruciales, como el metabolismo de la GLU, lípidos y proteínas. Fisiológicamente, su participación es crucial en la regulación de la homeostasis de la GLU, pues permite su entrada y almacenamiento en el tejido muscular y adiposo, y favorece su almacenamiento e inhibe su producción en el hígado. Además, la INS promueve la división y el crecimiento celular mediante sus efectos mitogénicos (Chandrasekaran y Weiskirchen, 2024).

Durante el ayuno, el hígado secreta GLU a la circulación para mantener la euglucemia y proporcionar combustible a los tejidos que consumen GLU. Este proceso se llama, producción de GLU hepática (PGH) e implica la descomposición del glucógeno hepático (glucogenólisis) y la síntesis *de novo* de GLU (gluconeogénesis) utilizando ácidos grasos y glicerol derivados de los tejidos adiposos. Luego de la ingesta de alimentos, la INS promueve el anabolismo y suprime los programas catabólicos. Durante el metabolismo de la GLU, la INS estimula a varios tejidos que consumen GLU, como el músculo esquelético y el tejido adiposo, para que la asimilen. Luego, en el hígado, el músculo esquelético y el tejido adiposo, promueve la síntesis de glucógeno y lípidos. Además, la INS suprime la PGH al inhibir la expresión de genes gluconeogénicos, y la lipólisis en el tejido adiposo. También la INS suprime la secreción de glucagón de las células α pancreáticas, y reduce el apetito a través del sistema nervioso central (Lee et al. 2022).

En el músculo esquelético, la señalización de la INS promueve la captación de GLU, su utilización y la síntesis neta de glucógeno. Así, en este tipo de tejido, la INS incrementa la actividad de transporte de GLU a través de la translocación altamente coordinada y la fusión de las vesículas de almacenamiento (GSV) del transportador de GLU tipo 4 (GLUT4) a la membrana plasmática. Además, y nuevamente referido al músculo esquelético, la INS también regula la síntesis neta de glucógeno al suprimir la glucogenólisis y promover la síntesis de glucógeno (Saltiel, 2021) (Figura 4).

En el tejido adiposo, la función fisiológica de la INS es suprimir la lipólisis, que a su vez suprime la PGH al reducir los sustratos gluconeogénicos. También, la INS, promueve la lipogénesis en el tejido adiposo blanco: activando SREBP-1c, señalando las translocaciones de GLU o proteínas transportadoras de ácidos grasos (FATP), promoviendo la esterificación de ácidos grasos, y estimulando la adipogénesis a través del factor de transcripción receptor-γ activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR γ) (Figura 4).

En el hígado, la INS activa un receptor específico de tipo tirosina quinasa que fosforila IRS1 e IRS2 y, en última instancia, activa Akt. Así, disminuye la PGH, promueve la síntesis de glucógeno y activa transcripcionalmente la lipogénesis. La función principal de la señalización de la INS hepática es disminuir la PGH al reprimir la gluconeogénesis mediada por la fosforilación inducida por Akt de la caja forkhead O1 (FOXO1). Así, excluye a FOXO1 del núcleo y, previene las activaciones transcripcionales de las expresiones de genes gluconeogénicos, como la glucosa-6-fosfatasa (G6PC) y la fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPCK). Además, la INS aumenta la síntesis de glucógeno hepático mediante la regulación de GYS (especialmente GYS2 en el hígado) y la glucógeno fosforilasa a través de GSK3 y PP1, como ocurre en el músculo esquelético (Lee et al. 2022).

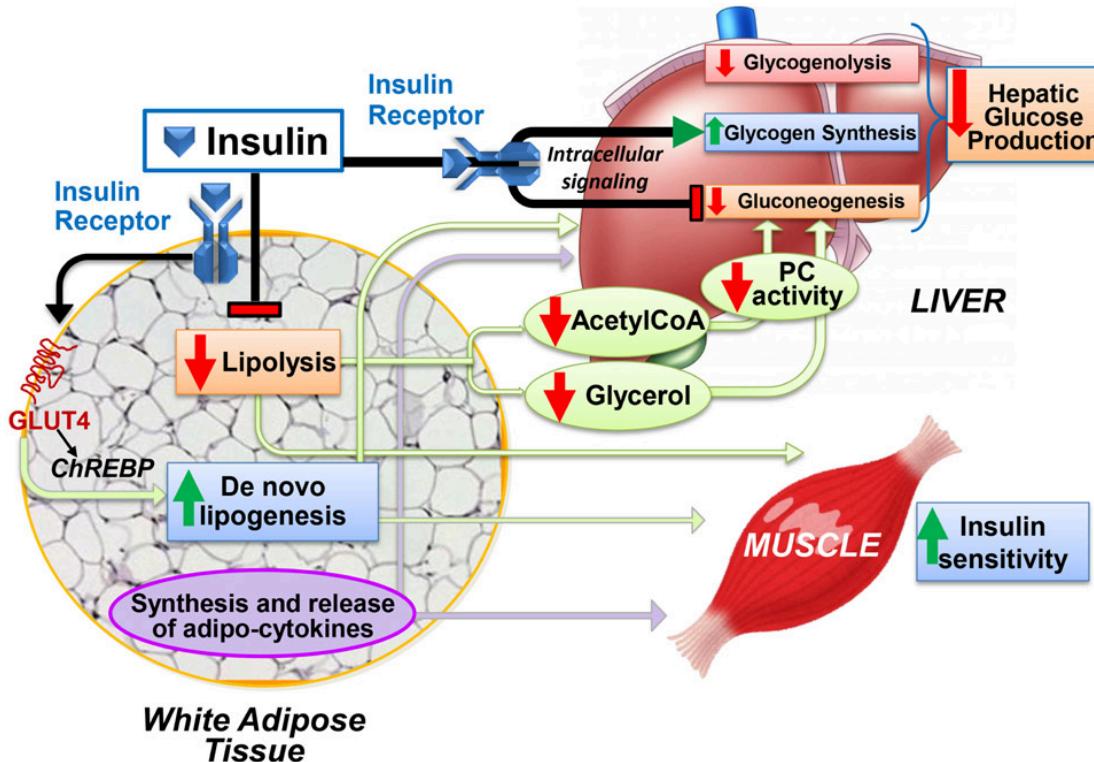


Figura 4: Acción de la insulina en adipocitos, remodelación del tejido adiposo y efectos sistémicos. Santoro, A., McGraw, T. y Kahn, B., 2021. Cell Metabolism).

Determinación de INS

Inmunoensayos (Generalidades):

La evaluación de la INS se realiza por dosaje de su concentración en suero sanguíneo. Los inmunoensayos, son los métodos más utilizados al efecto. Los mismos se fundamentan en la alta afinidad y especificidad de la reacción que ocurre entre el anticuerpo y el antígeno. En este caso, y en este tipo de determinación endocrinológica, la hormona (INS u otra molécula biológica) funciona como antígeno. Para su detección y/o dosaje, se enfrenta a la molécula a anticuerpos específicos, previamente obtenidos. Luego, mediante la utilización de moléculas marcadas en uno de los componentes de la reacción inmunológica permite un monitoreo de la unión antígeno- anticuerpo, más fácil y más sensible (Suescum y Gonzalez Calvar, 2005). Resulta, de gran importancia tener presente la estructura de la hormona en estudio y su heterogeneidad molecular al momento de pensar

en el diseño adecuado del inmunoensayo que posibilitará su detección y cuantificación. Por consiguiente, para cada ensayo, se puede plantear la reacción de equilibrio: $(Ac) + (Ag) \leftrightarrow (Ag\ Ac)$, donde el Ac es la concentración molar del anticuerpo y el Ag es la concentración molar del antígeno (hormona marcada, hormona presente en la muestra u hormona standard). La manera de poner de manifiesto la interacción de Ac:Ag, es con la utilización de los denominados *Trazadores*. Estas moléculas indicadoras pueden ser conjugadas y adicionadas a una cantidad constante de Ag o Ac, de tal modo que nos permite evidenciar el grado de unión entre Ag/Ac traduciendo una señal cuantificable. Se tiene en cuenta, que un trazador debe ser fácil de medir, presentar elevada sensibilidad y su presencia no debe alterar el grado de afinidad entre Ag/Ac.

De acuerdo al diseño aplicado para medir la fracción de ocupación del anticuerpo los Inmunoensayos se clasifican en :A) Competitivos y B) No competitivos. Por otra parte, los inmunoensayos pueden clasificarse en Heterogéneos y Homogéneos, según requieran o no separación de las fracciones de hormona libre y unida.

En la presente investigación, para la determinación de la concentración plasmática de INS, se utilizó un ensayo homogéneo de tipo no competitivo. El sistema de detección a utilizar dependerá del tipo de sustancia marcadora elegida. Para este caso en particular, se utiliza una sustancia quimioluminiscente.

Quimioinmunoanálisis:

Las sustancias luminiscentes son aquellas que sí son excitadas electrónicamente disipan energía en forma de luz. La luminiscencia está basada en el principio que una molécula es promovida al estado excitado y cuando éste regresa al estado basal, la luz es emitida. La evaluación de la emisión de la luz es la base de la medida cuantitativa. La quimioluminiscencia directa es la medida de la luz emitida y la quimioluminiscencia indirecta utiliza el estado excitado para transferir su exceso de energía a otra sustancia, la cual emite

luz. El sistema indirecto permite aumentar la sensibilidad por la utilización de un fluoróforo eficiente como acceptor de energía. La sustancia marcadora para quimioluminiscencia puede ser una especie emisora de luz como el luminol, isoluminol o ésteres de acridina o una enzima que cataliza la reacción quimioluminiscente, como la fosfatasa alcalina o la peroxidasa. La intensidad de la luz se puede relacionar con la cantidad de analito presente en la muestra. El instrumento usado para realizar las mediciones se conoce como Luminómetro, consta de una caja de muestra a prueba de luz y algún tipo de célula fotoeléctrica (Suescun y Gonzalez Calvar, 2005).

Principio del ensayo de INS: En el presente estudio se utilizó el equipo Maglumi 800 (Snibe, SRL), el cuál, para esta determinación emplea un inmunoensayo por quimioluminiscencia tipo sándwich. Para llevarse a cabo esta reacción se precisa de: la muestra (o calibrador/control, si corresponde), la solución búfer, las microperlas magnéticas recubiertas con anticuerpo monoclonal anti INS y el anticuerpo monoclonal anti INS marcado con ABEI (molécula pequeña no enzimática con fórmula molecular especial para mejorar su estabilidad en las soluciones ácidas y alcalinas). Se mezclan bien todas las partes involucradas en la reacción, y se incuban, formando un sándwich de inmunocomplejos. Después de la precipitación en un campo magnético, se decanta el sobrenadante y luego se realiza un ciclo de lavado. Posteriormente, se produce una quimioluminiscencia rápida, agregando ABEI + Hidróxido de Sodio (NaOH) y peróxido de Hidrógeno (H₂O₂). Se produce una reacción química que finaliza en solo 3 segundos. La señal luminosa se mide con un fotomultiplicador como unidades de luz relativa (RLU, por sus siglas en inglés), que es proporcional a la concentración de INS presente en la muestra (o calibrador/control, si procede).

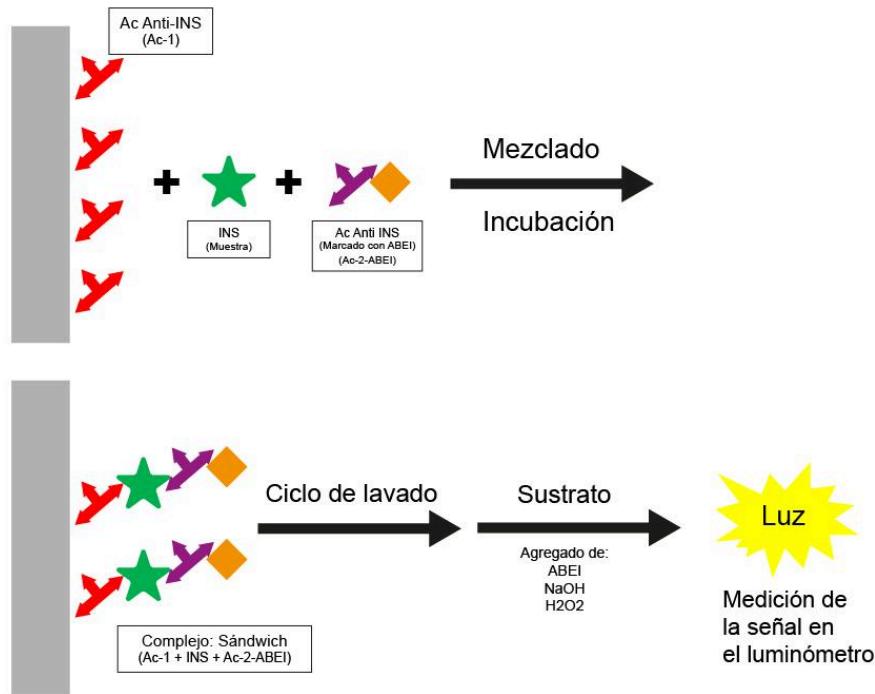


Figura 5: Ejemplo gráfico del ensayo Homogéneo - No Competitivo para la determinación de INS.

Estudio de la RI por medio del ÍNDICE HOMA:

Además de las determinación bioquímica *per sé* de INS, se pueden realizar cálculos indirectos para estudiar la RI, como el índice de **HOMA** (*Homeostatic Model Assessment*): **INS (μU/ml) x GLU (mg/dl) / 450**. Es el método matemático más usado para diagnosticar la RI, y muestra la interacción entre las células β y la sensibilidad a la INS, usando las concentraciones de GLU e INS (ambas en ayuno). Actualmente, se emplean los siguientes valores de referencia para su análisis (Tahapary et al. 2022).

Valor	Interpretación
≤ 1.96	Sin Resistencia a la Insulina
1.96 a 3	Sospecha de Resistencia a la Insulina
> 3	Con Resistencia a la Insulina

OTROS FACTORES ESTUDIADOS

Glucosa

La GLU es un carbohidrato esencial para la vida de los seres humanos. Es una sustancia química precursora importantísima para la producción energética celular. Es un sustrato fundamental para la producción de Adenosin Trifosfato (ATP), la verdadera molécula energética de los tejidos celulares. Es utilizado por ejemplo en las células musculares, cuando se realiza ejercicio de alta intensidad (Enríquez Meza, 2020).

El cerebro solamente es responsable del 20% del consumo de energía procedente de la GLU, aunque también es necesaria como fuente de energía para todos los tejidos del organismo. El consumo de hidratos de carbono de cualquier tipo (y no solamente azúcar o harina) resulta importante para incrementar y reponer los depósitos de glucógeno, tanto en el músculo como en el hígado. Es importante contar con estos reservorios, para ser utilizados tanto en la actividad física como en reposo. El azúcar es el hidrato de carbono más utilizado para proporcionar energía de rápida asimilación al organismo. Y, en realidad, está formado por un disacárido, la sacarosa, que luego se disocia para dar dos hidratos de carbono, una molécula de fructosa y una de GLU. La GLU ingerida tiene tres destinos principales: ser utilizada directamente por vías glucolíticas, almacenarse en forma de glucógeno en hígado y músculos (el hígado es el único órgano productor de GLU ya que el glucógeno muscular se utiliza como fuente de energía) y por último puede convertirse en grasa (Velásquez et al. 2013).

Fisiológicamente, y en un consumo adecuado, estos azúcares permiten una recuperación rápida en las personas que desarrollan un gran desgaste físico. Pero, en la actualidad en las sociedades modernas (fundamentalmente occidentales) con estilos de vida sedentarios y de alta concentración de ingesta de comidas y bebidas ricas en harinas y glúcidos, su consumo constituye un verdadero exceso. Este consumo desmesurado (continuo y sostenido en el tiempo) de glúcidos, junto al sedentarismo, aparecen como los

mayores factores epigenéticos que contribuyen a la aparición de la RI. La cual, con el paso del tiempo podrá llevar al individuo al desarrollo de patologías que involucren al metabolismo de los glúcidos, como es el caso de la DM-2 (Partearroyo et al. 2013).

Triglicéridos (TG)

Se denominan así a moléculas plasmáticas pertenecientes al grupo de los lípidos. Están constituidos por una molécula de glicerol (alcohol) esterificada con tres ácidos grasos saturados o insaturados, y constituyen una fuente importante de energía, principalmente en hígado y tejido adiposo, desempeñando un papel crucial en el metabolismo energético (Carvajal Carvajal, 2017).

Los triglicéridos (TG) como todas las grasas son insolubles en el medio acuoso, por lo que deben ser transportados en el plasma por otras moléculas, las lipoproteínas. Junto al TG, también son vehiculizados el colesterol, tanto libre como esterificado, los fosfolípidos y las apolipoproteínas. Además, son confinados en el núcleo de las partículas lipoproteicas debido a su carácter altamente apolar. Las lipoproteínas ricas en triglicéridos (LRT), es decir los quilomicrones (QM) y las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL *very low density lipoprotein*), son complejos esféricos compuestos por lípidos altamente apolares (TG y ésteres de colesterol) que ocupan la zona central, fosfolípidos (PL) y colesterol libre (CL) que dada su cierta polaridad se sitúan en la zona periférica junto a las apoproteínas de superficie. Los TG exógenos que provienen de la dieta se incorporan en el intestino a los QM para su transporte, mientras que los TG de origen endógeno circulan en las VLDL derivadas del hígado. La hidrólisis de los QM maduros circulantes y de las VLDL está mediada por la actividad de la lipoproteína lipasa (LPL), enzima fijada en la membrana de las células del endotelio capilar tanto del tejido adiposo como del muscular. La LPL, hidroliza los ácidos grasos de las LRT y permite que se internalicen en el tejido adiposo y muscular, para su almacenamiento y producción de energía, respectivamente (Ibarretxe et al. 2021).

En plasma, la concentración de TG resultará del equilibrio entre la tasa relativa de producción y de hidrólisis fraccional de las LRT. La normolipemia o normolipidemia (respecto del TG) se mantiene cuando estos dos procesos fisiológicos están en equilibrio. Mientras que una alteración en este equilibrio, ya sea por excesiva formación hepática o deficiente hidrólisis de los TG, puede conducir a una hipertrigliceridemia (HTG).

Podemos encontrar causas congénitas y causas adquiridas. Entre las HTG de causa congénita, tendremos las mutaciones genéticas que tienen que ver con la síntesis de las enzimas importantes en el metabolismo de las lipoproteínas ricas en triglicéridos. Por ejemplo, deficiencias de: LPL, apolipoproteína C-II o E, Lipasa hepática, proteína transportadora de ésteres de colesterol (PTEC), etc. Las HTG por causas adquiridas pueden ser múltiples. Por ejemplo, en la DM-2, existe resistencia de los tejidos periféricos a la acción de la INS, hormona reguladora importante del metabolismo lipídico. La INS deja de inhibir la liberación de los ácidos grasos del tejido adiposo, secretándose estos en gran cantidad, formándose en el hígado lipoproteínas ricas en TG, asociado esto a una disminución en el metabolismo de las mismas por defecto en la activación de la lipoproteína lipasa por parte de la INS. Nuevamente, puede observarse que un mecanismo de RI, también puede llevar al cabo del tiempo, al desencadenamiento de trastornos del metabolismo lipídico (Rodriguez, 2002).

Determinación de Glucemia y Triglicéridos- Fotocolorimetría

La fotocolorimetría fue la herramienta o técnica de análisis bioquímico utilizada en este trabajo, para el dosaje de las concentraciones plasmáticas de Glu y TG. Dicha técnica se fundamenta en la mayor o menor absorción de luz (de determinada longitud de onda) de acuerdo al número de moléculas presentes en una solución. La fotocolorimetría manipula las variables de este fenómeno controlando la luz incidente proveniente de un foco luminoso

y su pureza, de modo tal que sólo incide aquella luz que es específicamente adsorbida por la partícula que deseamos analizar (analito) (Lupo y Rigalli, 2021).

Al incidir sobre el material biológico con una intensidad inicial, las moléculas y/o átomos del mismo absorben parte de esa radiación, otra parte la dispersan y otra atraviesa la muestra. La cantidad de radiación absorbida se ajusta a leyes físicas concretas dependientes de las características tanto de la radiación como de la materia sobre la que se irradia. La radiación incidente será igual a la suma de la radiación absorbida, la dispersada y la que atraviesa la muestra sin entrar en contacto con los átomos o moléculas de la misma. El fenómeno de la Absorbancia de este tipo de análisis se basa en la *Ley de Lambert y Beer* (Del Valle y Cornejo, 2014).

TRASTORNOS METABÓLICOS

La RI si se mantiene en el tiempo, puede desencadenar diferentes trastornos metabólicos, como los siguientes casos:

1. Obesidad

La obesidad es una afección médica caracterizada por la presencia de un exceso de grasa corporal, que llevará a desarrollar algún efecto adverso para la salud de quien la sufra. La obesidad la define el Instituto Nacional de Salud con base en el índice de masa corporal (IMC), calculado como el peso de la persona en kilogramos dividido por el cuadrado de la altura en metros. Si el IMC es superior a 30, se considera que el individuo es obeso. El aumento de la masa grasa, caracteriza la obesidad a través del aumento del tamaño de las células de los adipocitos (hipertrofia) y la proliferación (hiperplasia). La acumulación excesiva de grasa corporal suele deberse a un desbalance en el metabolismo de los lípidos. Puede deberse a causas genéticas, hormonales y también epigenéticas (como la ingesta excesiva de alimentos que desencadena primariamente una RI). Este

exceso de lípidos se almacena como triglicéridos. Las células del tejido adiposo son los adipocitos. El tejido adiposo es un órgano endocrino grande y dinámico responsable del almacenamiento de energía y representa entre el 2 y el 70% del peso corporal en los seres humanos. (Roden y Shulman, 2019). Cuando los adipocitos no pueden absorber el exceso de triglicéridos, el cuerpo sintetiza nuevos adipocitos; el proceso se denomina adipogénesis, que crea un enorme espacio para el almacenamiento de grasa. Los tejidos adiposos (principalmente tejidos adiposos blancos) se distribuyen en varios depósitos, que se pueden dividir en dos tipos, los depósitos subcutáneos (glúteos, femorales y abdominales) y los depósitos viscerales. (omentales, mesentéricos, cardiovasculares y perirrenales). Durante el consumo en exceso (fundamentalmente de hidratos de carbono), la grasa tiende a acumularse en los depósitos viscerales y subcutáneos, haciendo que estos depósitos crezcan por hipertrofia e hiperplasia, se inflamen y se vuelvan poco saludables (Ahmed et al. 2021).

A esta patología contribuyen múltiples factores (genéticos, neurológicos, psíquicos, hormonales, ambientales). En muchos casos, la alteración reside principalmente en los mecanismos que regulan el apetito. La sensación de hambre es monitoreada por un complejo sistema de hormonas y péptidos secretados en el hipotálamo, que influyen en la conducta de ingesta de alimentos. Los más importantes de estos factores son: la hormona melanocito estimulante a (MSHa) de acción anorexígena o depresora del apetito al igual que el neuropéptido Y, y la proteína relacionada con agouti (de efecto estimulante del hambre u orexígeno). La liberación de estos factores es modulada por agentes generados en el tracto digestivo y en el tejido adiposo. En el estómago se produce grelina, activadora de las neuronas que liberan neuropéptido Y. Su secreción se eleva en los períodos entre comidas, cuando la cavidad gástrica está vacía; al llegar alimentos al estómago, la producción cae rápidamente. Un antagonista de la grelina es la colecistoquinina de intestino. Su secreción aumenta inmediatamente después de una comida. También como

supresora del apetito actúa otra hormona del intestino, llamada péptido YY (PYY), de efecto más prolongado, hasta 12 horas después de la ingesta de alimentos. (Blanco, A y Blanco, G, 2016)

El tejido adiposo no es sólo un depósito de grasas, sino un activo órgano endocrino; juega un papel importante en la regulación del balance energético y la homeostasis nutricional. Produce hormonas proteínicas como leptina, adiponectina, resistina y citoquinas proinflamatorias. La leptina es una proteína de 16 kDa secretada por los adipocitos; sus niveles plasmáticos, en humanos, se incrementan después de unos 3 o 4 días de excesos en la ingestión de alimentos y disminuyen luego de varias horas de ayuno. La leptina liberada en la circulación atraviesa la barrera hematoencefálica, se une a receptores específicos en neuronas del núcleo arcuato del hipotálamo y desencadena una serie de acciones: inhibe la producción de neuropéptidos orexígenos, activa la de anorexígenos y estimula el catabolismo. También tiene efectos importantes sobre el balance energético. Como resultado, disminuye la apetencia de ingesta de alimentos, se reduce el peso corporal, aumenta la oxidación de grasas y el gasto de energía. La ausencia de leptina, o su incapacidad para llegar al cerebro o para interactuar con sus receptores, llevan a la obesidad. Resulta curioso que en personas obesas no se haya detectado carencia de leptina, sino más bien un aumento de sus niveles en plasma. Hay falta de respuesta a la misma, quizás por fallas en los receptores. Mientras que los niveles de adiponectina se encuentran disminuidos (Blanco, A y Blanco, G, 2016). También la INS juega un papel fundamental y cada vez más importante en la obesidad producida por la ingesta exagerada de alimentos, fundamentalmente los ultraprocesados (ricos en azúcares y almidones). En los obesos es frecuente encontrar una aumento de los niveles plasmáticos de INS (Joseph y Golden, 2017).

2. Enfermedad de hígado graso no alcohólico (EHGNA o HG)

La EHGNA o HG, es una enfermedad emergente de alta prevalencia, que se caracteriza por la acumulación excesiva de grasa en el hígado. Para considerar este proceso de formación de HG, el mismo debe realizarse en ausencia de consumo excesivo de alcohol o fármacos hepatotóxicos o esteatósicos, y otras etiologías como la hepatitis viral crónica. EHGNA es un término general que describe un espectro histológico que va desde el hígado graso no alcohólico (EHGNA) hasta la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) (Lazarus, 2021).

El sello distintivo de la EHGNA (o HG) es la acumulación de ácidos grasos (AG), en forma de TG, en el citoplasma de los hepatocitos, lo que surge de un desequilibrio entre la adquisición de lípidos y su eliminación (Figura 6).

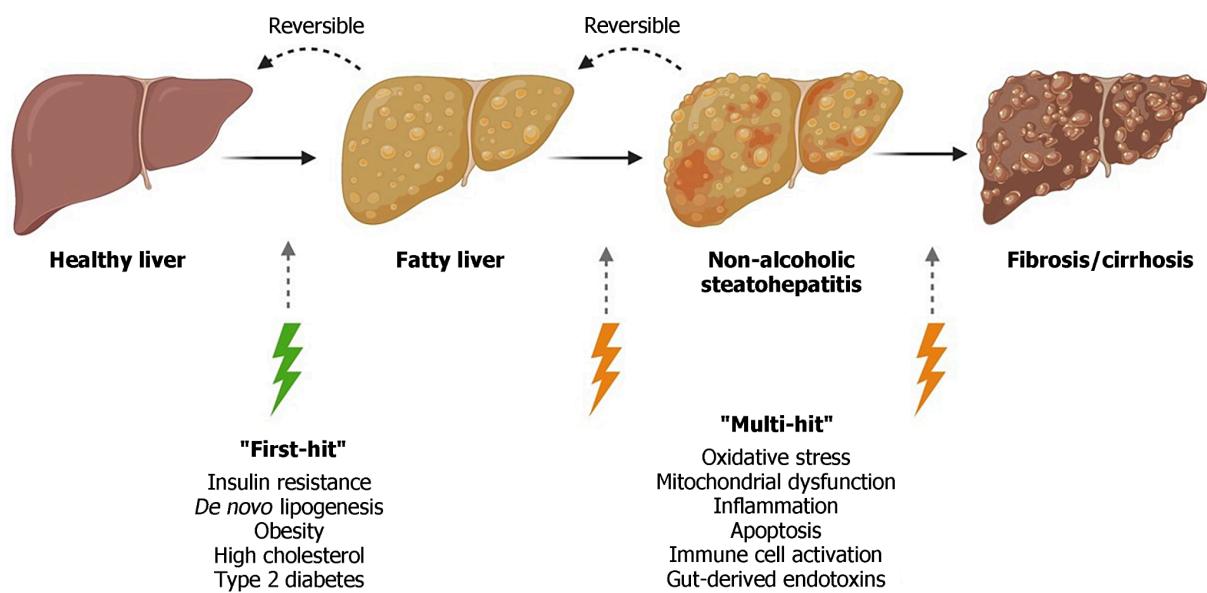


Figura 6: EHGNA: mecanismos inmunológicos y tratamientos actuales, por Baishideng Publishing Group., 2023. Petagine L, Zariwala MG, Patel VB.

La acumulación de lípidos depende de la disponibilidad de AG libres en el hepatocito, que procede de tres fuentes principales:

- Lipólisis del TA: Fuente mayoritaria de AG. Cuando la capacidad de almacenamiento del TA se sobrepasa, situación frecuente mencionada anteriormente en la obesidad, se produce un aumento en la movilización de AG libres. Esta situación se puede ver agravada en los casos de RI, pues la INS se encarga de inhibir la lipólisis en el adipocito.
- Lipogénesis de novo intrahepatocitaria: Fuente de donde derivan aproximadamente una cuarta parte de los AG acumulados. Además, la composición de la dieta puede afectar a esta lipogénesis, la cual se incrementa no sólo ante un mayor aporte de carbohidratos, sustratos de este proceso anabólico, sino también ante determinados tipos de carbohidratos como los carbohidratos simples, fácilmente convertidos a AG, o la fructosa, un potente inductor de la lipogénesis de novo.
- Dieta: aproximadamente un 15% de los AG proceden directamente de la dieta, y por lo tanto se ven incrementados en dietas en las que más del 30% del aporte calórico sea en forma de grasas (Crespo et al. 2021).

El HG es parte de una enfermedad multisistémica que afecta a órganos extrahepáticos y vías reguladoras, y es reconocido como el componente hepático del síndrome metabólico, siendo la RI el mecanismo fisiopatológico en común que conecta a estas enfermedades. El HG (o EHGNA) comparte una relación bidireccional con el síndrome metabólico, agravando la resistencia a la INS y predisponiendo a la dislipidemia aterogénica e incrementando el riesgo de incidencia del síndrome metabólico. La prevalencia de EHGNA es más alta en pacientes con DM-2 que en la población general, mientras que la incidencia de la DM-2 es más alta en pacientes con EHGNA. La enfermedad también está

fuertemente relacionada con la obesidad, aumentando la prevalencia de esta enfermedad a la par que aumenta el IMC.

3. Síndrome metabólico (SM)

Al metabolismo se lo define como: conjunto de reacciones bioquímicas que transforman los nutrientes en la energía necesaria para la vida. Y, por lo tanto, al SM podría definirse brevemente como un desequilibrio en este metabolismo (Rezzani y Franco, 2021).

La inflamación crónica de bajo grado, asociada con un aumento del estrés oxidativo en todo el cuerpo, es la causa básica de la debilidad de la salud humana; y este estado inflamatorio se origina principalmente por el aumento de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Fahed et al. 2021).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce a la insulinorresistencia como el factor común del desarrollo de los componentes individuales del síndrome metabólico. La OMS, en el año 1998, define los factores de riesgo que se incluyen dentro del SM, y establecía que los individuos debían evidenciar insulinorresistencia más 2 de otras 4 alteraciones (hiperglucemia, hipertensión, dislipemia y obesidad) (Puchulu, 2008). Hoy, el SM se determina por la aparición de 3 de los siguientes 5 parámetros (tabla 1):

Criterios	Parámetros
Glucemia	Glucemia en ayunas >100 mg/dl
Presión Arterial	>130/85 mmHg
Triglicéridos	>150 mg/dl
Colesterol HDL	< 40 mg/dl en hombres < 50 mg/dl en mujeres
Obesidad (Perímetro de cintura)	Hombre ≥ 94 cm (en hispanos) Mujer ≥ 88 cm

Tabla 1: Factores a considerar en un SM.

Los parámetros descritos en la tabla 1, pertenecen a definiciones de la NCEP-ATP III (*National Cholesterol Education Program & Adult Treatment Panel III*). El SM tiene varias causas que actúan de modo conjunto, y llevan al profesional médico a su estudio (Jiménez Franco et al. 2023). Entre ellas están:

- Genética: Origen étnico.
- Resistencia a la insulina.
- Sobrepeso y obesidad.
- Inflamación generalizada.
- Estilo de vida sedentario.
- Edad avanzada (aunque cada vez se ven pacientes más jóvenes con SM).
- Historia familiar.

4. Hipertensión Arterial (HTA)

La hipertensión arterial (HTA) está definida como la elevación de la presión arterial sistólica (PAS) por encima de 140 mmHg y/o la presión arterial diastólica (PAD) por encima de 90 mmHg (Jiménez Franco et al. 2023).

La RI también contribuye al SM con el desarrollo de la HTA. La misma es causada en parte, por la pérdida del efecto vasodilatador producido vía de la INS incrementada. Esta hormona aumenta la activación de la angiotensina en riñón, facilitando su posterior efecto vasoconstrictor sistémico. Y, por otra parte, también se produce HTA por la vasoconstricción inducida por los AGL debido a la producción de especies reactivas de oxígeno, y la posterior eliminación de óxido nítrico. Otros mecanismos implican a una mayor estimulación simpática y a la reabsorción de sodio inducida por aumento del sistema renina, también en los riñones. Además, la RI conduce a una mayor viscosidad sérica, crea un estado protrombótico y aumenta la liberación de citoquinas proinflamatorias del tejido adiposo, todo lo cual juega un papel importante en el aumento de los riesgos de ECV y DM tipo 2 (Fahed et al. 2021).

El papel de la INS en la absorción de sal en el túbulo renal proximal apuntan a que la INS mejora la absorción de sal a través del intercambiador de sodio/protones (NHE3), por medio de un trabajo en conjunto del transportador de bicarbonato (NBCe1) basolateral, así como con el simportador de sodio/glucosa (SGLT2). Además, los niveles elevados de INS circulante están asociados con un aumento en los niveles circulantes de endotelina-1, un péptido producido por las células endoteliales que tiene actividad vasoconstrictora, lo que podría contribuir a la generación de la hipertensión en la RI (Soleimani et al. 2023).

5. Diabetes Mellitus tipo 2 (DM-2)

La diabetes mellitus, es una enfermedad metabólica crónica caracterizada por niveles elevados de GLU en sangre, lo que con el tiempo provoca daños en: corazón y vasculatura sistémica, ojos, riñones, sistema nervioso, y organismo en general. Más del 90% de los casos de diabetes mellitus son tipo 2, que es una afección caracterizada por: una secreción deficiente de INS por las células β de los islotes pancreáticos, una creciente resistencia tisular generalizada a la INS (RI), y una respuesta secretora compensatoria inadecuada de dicha hormona. La progresión de la enfermedad hace que la secreción de INS sea incapaz de mantener la homeostasis de la GLU, produciendo hiperglucemia (Asociación Latinoamericana de Diabetes, 2019).

Fisiopatológicamente, la enfermedad se produce por un mal funcionamiento de los circuitos de retroalimentación entre la acción y la secreción de la INS, que da como resultado niveles anormalmente altos de GLU en sangre. Este aumento puede producirse por dos mecanismos: 1. En el caso de disfunción de las células β , la secreción de INS se reduce. Este déficit limita la capacidad del cuerpo para mantener niveles fisiológicos de GLU, produciendo hiperglucemia. 2. Por otro lado, la RI contribuye a una mayor producción de GLU en el hígado y a una disminución de la captación de GLU tanto en el músculo, como

en el hígado y el tejido adiposo, lo que también induce al establecimiento de la hiperglucemia. Incluso si ambos procesos tienen lugar temprano en la patogénesis y contribuyen al desarrollo de la enfermedad, la disfunción de las células β suele ser más grave que la RI (pues es posible revertirla). Sin embargo, cuando están presentes tanto la disfunción de las células β como la RI, la hiperglucemia se amplifica y conduce a la progresión de la DM-2 (Galicia García et al. 2020).

Fisiopatología de la Insulinorresistencia (RI)

Como se mencionó anteriormente, la RI se define fisiológicamente como la incapacidad de los tejidos para responder a niveles normales de INS para reclutar a las moléculas de GLU desde el torrente sanguíneo y hacerlas ingresar a las células. Por lo tanto, las células \square del páncreas de manera compensatoria, producirán mayor cantidad de INS, y se incrementará en sangre el nivel circulante de esta hormona. El músculo esquelético es un tejido “cuantitativamente” central para la eliminación de GLU, estimulado por la INS. Pero, el hígado y el tejido adiposo son “cualitativamente” sitios críticos para la señalización de la INS inducida por la GLU. Por esta razón, estos últimos tejidos se consideran fundamentales para la comprensión de los mecanismos responsables de la RI (Lee et al. 2022).

En una ingesta normal promedio, en las sociedades modernas, se consume fundamentalmente una mezcla de macronutrientes (hidratos de carbono, proteínas y grasas). Los hidratos de carbono (HC), principalmente el azúcar (o sacarosa, es un disacárido formado por una molécula de GLU y una de fructosa), y el almidón (polisacárido vegetal formado por cadenas de moléculas de GLU), representan una proporción importante de los alimentos que componen la dieta humana moderna. El proceso de digestión degrada los HC de los alimentos, hasta el estado de monosacáridos. En este estado solamente pueden ser absorbidos a través de la mucosa intestinal y ser metabolizados en las células.

La GLU predomina netamente entre los monosacáridos resultantes de la digestión de alimentos comunes. La fructosa, alcanza cantidades significativas si la ingesta de sacarosa es abundante (principalmente con ingestas abundantes de frutas). La galactosa, adquiere importancia cuando el principal carbohidrato de la dieta es lactosa (en lactantes, por ejemplo). Después de su absorción, los monosacáridos son transportados hacia el hígado por la vena porta. En hígado, tanto la galactosa como la fructosa pueden ser transformadas en metabolitos idénticos a los derivados de la GLU. De tal modo que los tres monosacáridos tienen un destino metabólico común.

Durante la absorción intestinal siguiente a una comida (período posprandial), especialmente si ésta ha sido rica en glúcidos, el hígado no alcanza a capturar toda la GLU que le llega y a transformarla en glucógeno; parte de ella pasa a la circulación general.

Todos los tejidos reciben un aporte continuo de GLU. Si bien, muchos tejidos tienen capacidad para sintetizar y almacenar glucógeno, estos procesos son particularmente importantes en hígado y músculo. Del total del glucógeno existente en el organismo de un adulto, aproximadamente una tercera parte se encuentra en hígado y casi todo el resto en músculos. Es muy pequeña la cantidad existente en otros tejidos. En sangre circulante existe siempre GLU y en condiciones de normalidad se mantiene entre 70 y 100 mg/dL, si su concentración es determinada a más de tres horas de la ingestión de alimentos. Después de cada comida se produce aumento transitorio en el nivel de GLU en sangre (Blanco, A y Blanco, G, 2016).

A medida que el consumo de carbohidratos aumenta y es continuo durante el día, sucede que en cada ingesta, se producen picos, tanto de GLU como de INS (Figura 7).

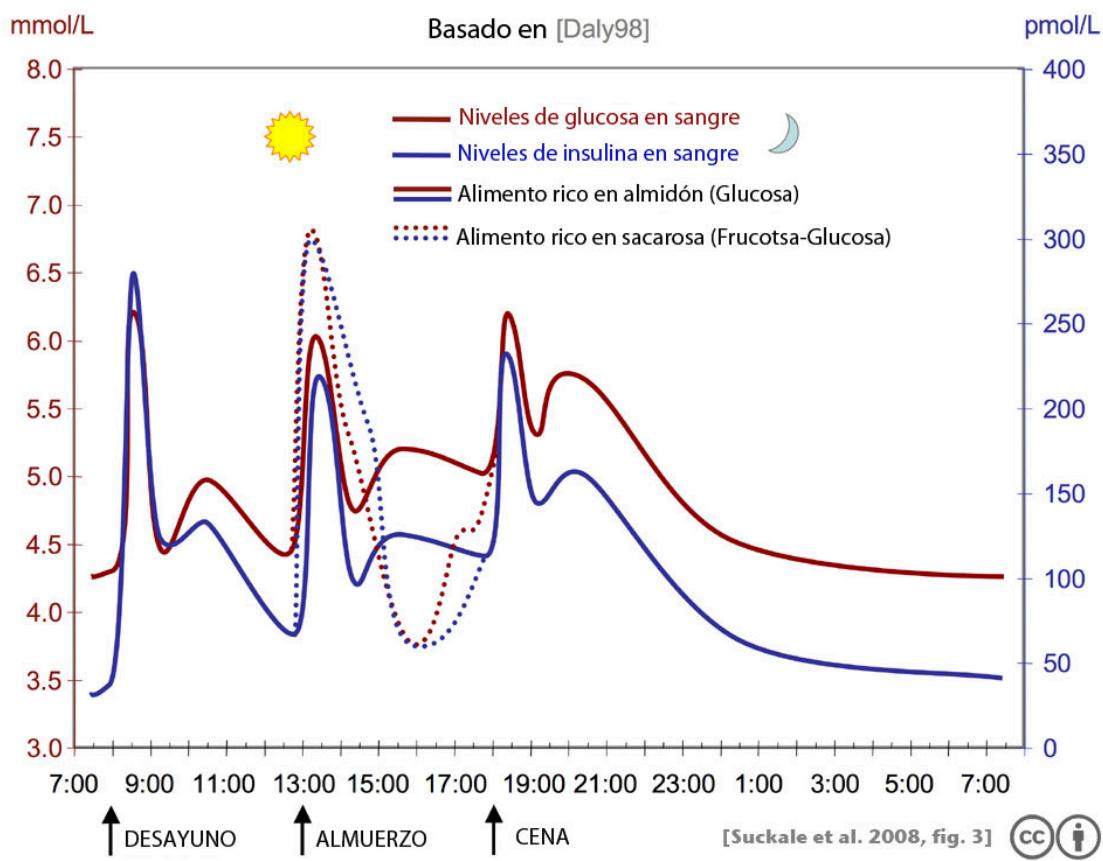


Figura 7: Niveles de GLU e INS luego de cada ingesta de alimentos ricos, en almidón y en sacarosa, 2008, por *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*. Suckale, J., y Solimena, M.

Cuando el consumo de glúcidos resulta exagerado, existe un desequilibrio del balance energético con mayor ingreso de moléculas fuente de energía, que las que pueden consumirse. Un estado de excedente crónico de GLU, provocará una exigencia constante y desmedida de las acciones por parte de la INS. La acción de dicha hormona, será activar el ingreso a las células, de las moléculas de GLU remanentes en el torrente sanguíneo. Dichas células, al tener aporte suficiente de moléculas energéticas, al no poder funcionar de reservorio de las mismas, o verse sobrepasado el almacenamiento (hígado y músculo esquelético), comenzarán a volverse refractarias a la señalización de la INS. El músculo esquelético es un gran reservorio de GLU circulante y representa hasta el 70% de la eliminación de GLU en sangre. El resultado directo de la resistencia muscular a la INS es

una disminución de la absorción de GLU por parte del tejido muscular. La GLU también irá al hígado, donde se produce la *lipogénesis de novo*. Las tasas altas de lipogénesis, aumentan el contenido de TG plasmáticos y crean un entorno de exceso de sustrato energético, lo que aumenta la RI en todo el cuerpo, de esta forma se contribuye al depósito ectópico de lípidos, dentro y alrededor de los órganos viscerales y tejidos musculares (Freeman et al. 2023).

Acumulación ectópica de lípidos y RI

El tejido adiposo es el principal sitio de almacenamiento de grasas del organismo; la magnitud de este depósito depende del número total de adipocitos existentes y de la cantidad de triacilgliceroles (TG) por célula. En la lipodistrofia, el tejido adiposo no puede amortiguar la entrada de ácidos grasos (AG) posprandiales y, como resultado, los AG se entregan a otros tejidos metabólicos, lo que altera la señalización de la INS y provoca una resistencia grave a la hormona.

Los AG en exceso saturan la capacidad de almacenamiento del tejido adiposo y empiezan a depositarse en órganos, como hígado, músculo, corazón, etc., con el consiguiente deterioro funcional. Esta sobrecarga de grasas influye sobre los niveles de lipoproteínas. Por ejemplo, el mayor flujo de AG desde tejido adiposo a hígado estimula la producción de VLDL, disminuye la lipólisis de lipoproteínas ricas en TG mediada por la lipoproteína lipasa (LPL) y aumenta el catabolismo de HDL. Este desbalance en el metabolismo de los Ag, se suma a la insensibilidad de los tejidos a la INS, que resulta en hiperglucemia.

Se observa en la imagen (Figura 8), que la sobrecarga de lípidos, acoplada a la sobrenutrición, provocan una mayor absorción de TG a través de partículas de triacilglicerol de quilomicrones (CM-TAG) desde el intestino. Si la capacidad de absorción y almacenamiento del tejido adiposo se ve superada, los TG elevados se transfieren a

diferentes órganos, como el hígado, los músculos y el páncreas, a través de la lipoproteína TAG de muy baja densidad y la LPL. Además, esto conduce a concentraciones más altas de ácidos grasos no esterificados (AGNE o NEFA, según sus siglas en inglés) y triacilglicerol circulantes. A largo plazo, la oxidación deficiente de los lípidos conduce a la acumulación de grasa en diferentes órganos, al desarrollo de RI y a niveles significativamente más altos de GLU circulante (Chandrasekaran, y Weiskirchen, 2024).

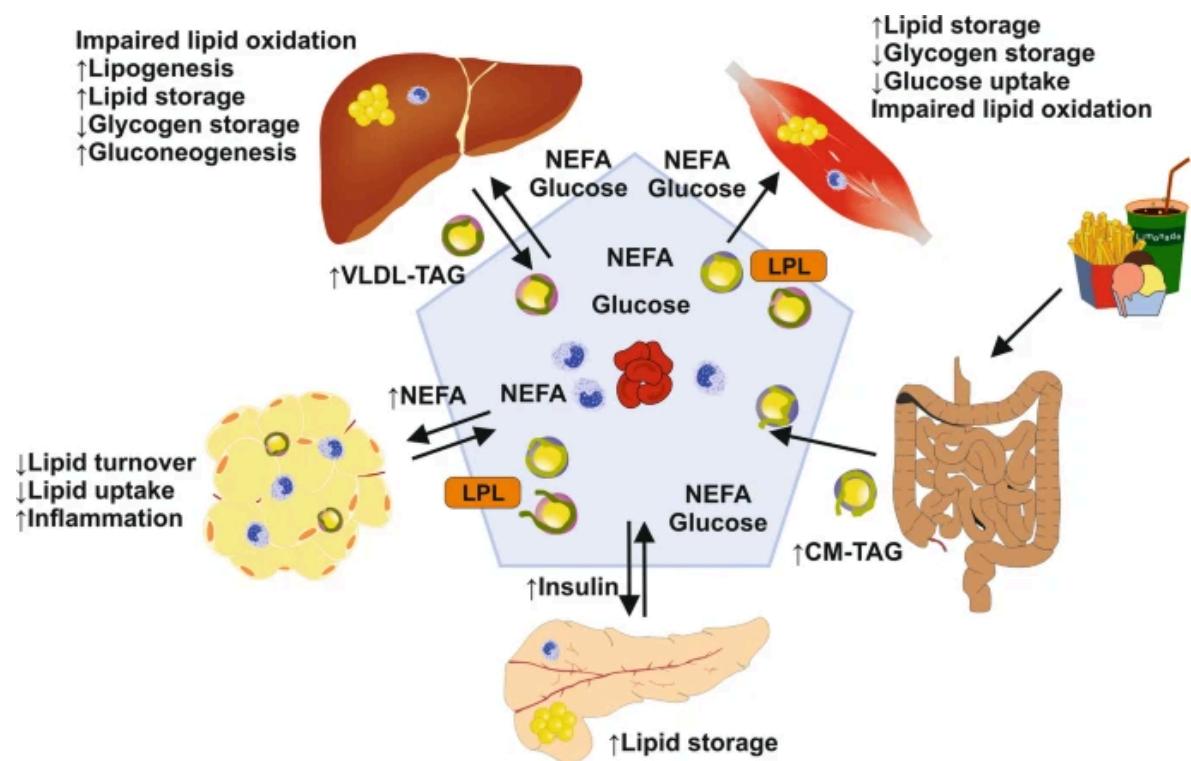


Figura 8: Mecanismos celulares y moleculares de resistencia a la insulina, por Chandrasekaran, P., Weiskirchen, R., 2024. Springer link.

La acumulación ectópica de lípidos induce RI, debido a que varios metabolitos lipídicos, incluidos el diacilglicerol (DAG), el ácido lisofosfatídico (LPA), las ceramidas y las

acilcarnitinas, están involucrados en la patogénesis de la RI en el hígado y el músculo esquelético.

Los ácidos grasos se esterifican rápidamente en las células a acil-CoA graso, que se transfiere a una cadena principal de glicerol para formar LPA, DAG y triacilgliceroles (TG) mediante lipogénesis. Estos intermediarios lipídicos, especialmente DAG, podrían funcionar como segundos mensajeros en vías de señalización clave implicadas en la patogénesis de la RI. El aumento de los niveles hepáticos de DAG induce la translocación de proteína cinasa C (PKC, PKC ϵ y PKC θ en el hígado y el músculo esquelético, respectivamente) a la membrana plasmática e inhibe la actividad tirosina quinasa del receptor de insulina tirosina quinasa (IRTK) al fosforilarla en Thr1160, que inactiva el sustrato 2 del receptor de insulina (IRS-2), fosfatidilinositol-3-OH quinasa (PI3K) y Akt2 (Figura 9).

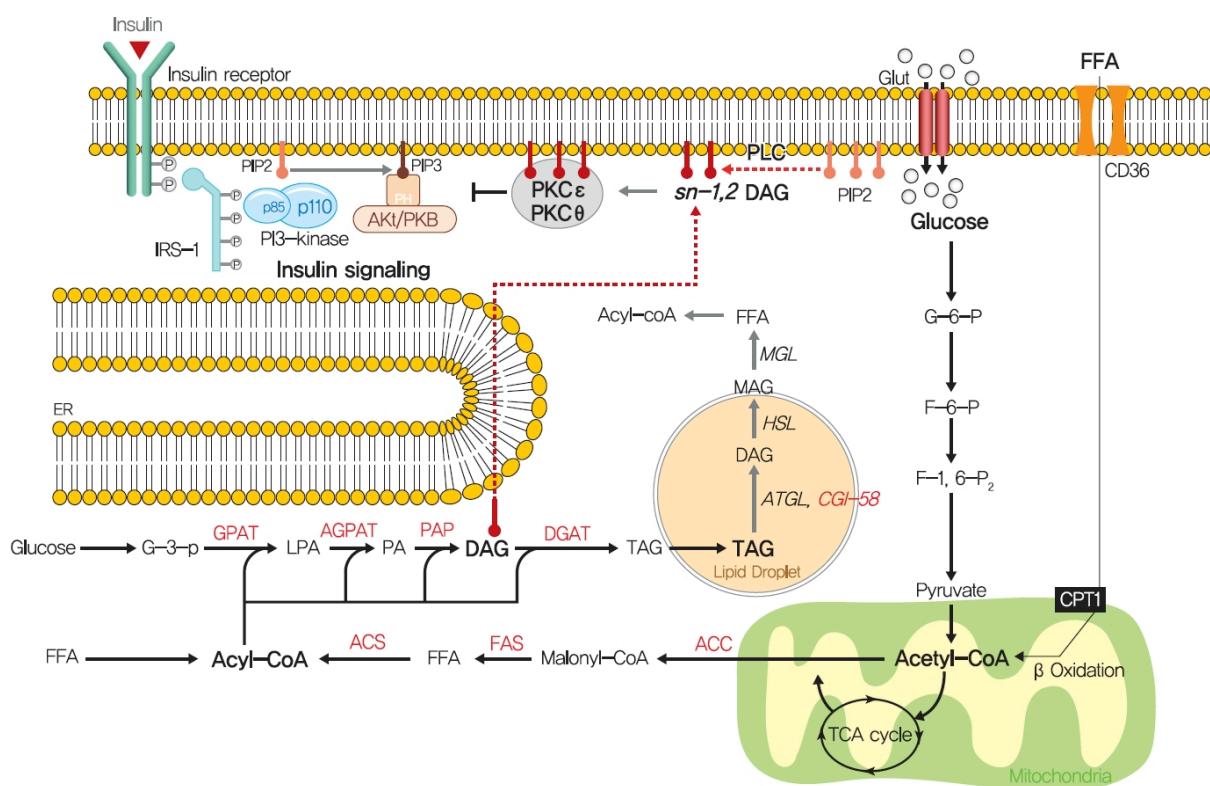


Figura 9: Resistencia a la insulina: de mecanismos a estrategias terapéuticas, por Lee, S., Park, S. Y., y Choi, C., 2022. Diabetes y metabolismo journal.

Inflamación y RI

Los depósitos de grasas, o tejido adiposo constituyen un activo órgano endocrino que juega un papel importante en la regulación del balance energético y la homeostasis nutricional. Produce hormonas proteínicas como leptina, adiponectina, resistina y citoquinas proinflamatorias principalmente interleuquina 6 (IL-6) y factor de necrosis tumoral α (TNF α). En principio, Leptina y adiponectina favorecen la acción de la INS en hígado y músculo esquelético, es decir, tienen acción anti diabetógena por su capacidad de disminuir la síntesis de TG y de estimular la beta oxidación de los ácidos grasos (AG).

A su vez, el tejido adiposo produce respuesta inflamatoria, la cuál está relacionada con la RI de dos maneras. En primer lugar, la estimulación de los intermediarios de señalización inflamatoria conduce directamente a la fosforilación de serina del IRS-1 en hepatocitos y miocitos, induciendo RI. En segundo lugar, dentro del tejido adiposo, la infiltración de células inflamatorias puede alterar el metabolismo de los lípidos de los adipocitos, y se produce TNF- α . Y, este factor promueve la lipólisis y cambios en la producción de citoquinas, como la IL-6. Los factores proinflamatorios como la IL-6, el TNF- α , las especies reactivas de oxígeno (ROS) y la hipoxia reducen los niveles plasmáticos de adiponectina. La adiponectina activa la señalización de AMPK y del receptor activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR- α) que promueven una mayor oxidación de ácidos grasos y absorción de GLU en los músculos, al tiempo que suprime la gluconeogénesis en los tejidos hepáticos. Por lo tanto, al disminuir la adiponectina induce IR, aumentando la producción endógena de GLU en hígado, y disminuyendo la actividad de la vía de señalización de PPAR- α (Vázquez Jiménez, 2017).

Disfunción mitocondrial y RI

El aporte excesivo de AG libres al hígado conduce a una adaptación a nivel mitocondrial aumentando los procesos de β -oxidación y, por tanto, generando un flujo

excesivo de electrones en la cadena respiratoria mitocondrial. Esto da como resultado una sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS) que puede exceder los mecanismos antioxidantes normales, lo que lleva al estrés oxidativo. Las ROS se comportan como un agente oxidante muy potente, generando un daño indiscriminado a nivel de diversas estructuras celulares, incluyendo DNA, membranas lipídicas y proteínas. Entre las membranas lipídicas dañadas, se encuentra la membrana mitocondrial.

Además, la sobrealimentación crónica aumenta los niveles de malonil-CoA, lo que promueve la síntesis de ácidos grasos. Por otro lado esto lleva a inhibir la carnitina-acil transferasa I. Los ácidos grasos no pueden ser oxidados en mitocondrias, afectando a la cadena de transporte de electrones e incluso causando mutaciones en el DNA mitocondrial, lo que conduce a la disfunción de la mitocondria.

Por otro lado, las ROS son capaces de estimular la síntesis y secreción de citocinas proinflamatorias, y de activar vías proapoptóticas iniciando así la muerte celular programada, dando lugar a un fenómeno que se conoce como lipoapoptosis. (Crespo et al. 2021). Como se ha expresado en el apartado Inflamación y RI, los radicales libres (o ROS) producidos liberan factores proinflamatorios como la IL-6, el TNF- α . Éstas especies ROS junto a la hipoxia, reducen los niveles plasmáticos de adiponectina. Por lo tanto, por un mecanismo que afecta a las mitocondrias, también disminuye la adiponectina e induce RI (Chandrasekaran y Weiskirchen, 2024).

Estrés del retículo endoplásmico y RI

Dentro de las células existe un complejo sistema de membranas intracelulares responsable del plegado y tráfico de una amplia gama de proteínas, que se conoce como retículo endoplásmico (RE). En condiciones patológicas o estresantes, como un exceso de AG libres, la función del RE se ve alterada, aumentando así las proteínas no plegadas. A este hecho se le conoce con el término de estrés del RE. Este tipo de estrés celular

desencadena una respuesta adaptativa llamada respuesta a proteínas desplegadas (*Unfolded Protein Response*, UPR), la cual está mediada por diferentes proteínas sensores de estrés encargadas de resolver el defecto en el plegamiento de las proteínas. Ante un estrés persistente del RE, la adaptación comienza a fallar y se produce la apoptosis, posiblemente mediada por perturbaciones en el calcio intracelular, formación de ROS y activación de vías intracelulares proinflamatorias y factores proapoptóticos. Este estrés del RE altera la señalización de la insulina, contribuyendo al desarrollo de la resistencia a la insulina y la diabetes. Se ha demostrado una estrecha correlación entre el estrés del RE, la inflamación y la resistencia a la insulina. Resulta interesante mencionar que la existencia de estrés del RE ha sido reportado en hígado y tejido adiposo en humanos con obesidad y que su condición mejora cuando el paciente reduce de peso (Gregor et al. 2009).

A modo de corolario de la Introducción, cabe señalar que si bien se ha avanzado mucho en el conocimiento del mecanismo molecular de la RI, no se ha logrado aún establecer aspectos claves de dicho proceso que permitan diseñar fármacos capaces de controlar la RI y la consecuente progresión a otros trastornos metabólicos, como los aquí descritos (DM-2, etc.). La RI se identifica como la respuesta biológica alterada de los tejidos diana a la estimulación de la INS. Todos los tejidos con receptores de INS pueden volverse resistentes a la INS, pero los tejidos en los que se producen principalmente RI son el hígado, el músculo esquelético y el tejido adiposo. Junto a la DM-2, el espectro de enfermedades asociadas con la resistencia a la INS incluye, obesidad, enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA), síndrome metabólico y enfermedades cardiovasculares. Todo esto, tiene grandes consecuencias en los centros de salud para tratar las condiciones directas e indirectas asociadas con la resistencia a la INS. Se considera una condición principalmente adquirida (mediante factores epigenéticos), pero con una susceptibilidad genética como factor predisponente. El espectro de personas a las

que se les descubre RI bioquímicamente (por hallazgo o presunción médica), cada vez más, incluye a jóvenes. Hoy día, el mejor tratamiento conocido resulta de mejorar las condiciones de vida del individuo. Es decir, llevar a la persona hacia un ambiente saludable, en donde debe incluirse una alimentación natural saludable, una actividad física regular, y disminuir los estresores que lo puedan afectar. Así es que el presente estudio pretende determinar la presencia de RI en pacientes del LCRyP en una período establecido, analizando las edades de los individuos que ya la expresen, y su posible conexión con la enfermedades relacionadas o síndrome metabólico.

OBJETIVOS

Generales:

- Relacionar bioquímica y clínicamente parámetros involucrados en pacientes del LCRyP con sospecha de RI, que pudieran alertar sobre el posible desarrollo de futuras enfermedades metabólicas (EM).

Particulares:

- Interpretar de manera teórica los conceptos de la fotocolorimetría y de la quimioluminiscencia, como herramienta de la bioquímica clínica de rutina y de determinaciones bioquímicas hormonales, respectivamente.
- Relacionar desde el punto de vista del diagnóstico y/o el seguimiento clínico, las acciones biológicas de la INS, en valores elevados, como predictor de ciertos estados metabólicos (SM, EM).
- Adquirir destreza en la interpretación de resultados de los parámetros clínicos (Glucemia y Trigliceridemia), en relación a la presencia de hiperinsulinemia.

- Incorporar destreza en el tratamiento informático de los datos obtenidos por análisis estadístico.

DISEÑO METODOLÓGICO

Área de Estudio: *Endocrinología y Química Clínica.*

Tipo de Estudio: *Retrospectivo estadístico.*

La búsqueda de datos e investigación se llevó a cabo en el Laboratorio Central de Redes y Programas (LCRyP) de la provincia de Corrientes, Argentina. Con el aval correspondiente de los directivos y autoridades a cargo del LCRyP. Para la extracción de los datos de este trabajo, al ser del tipo retrospectivo, se utilizó el programa de la institución, cuya denominación es Easylab. En todo momento se mantuvo en el anonimato la identidad de los pacientes a los cuales pertenecían. Luego, para su posterior análisis, los datos fueron analizados con una base de datos de Excel.

Universo: Se revisaron todos los datos extraídos de los análisis de sangre de pacientes que concurrieron al LCRyP, durante los meses de enero a septiembre del año 2023. El resultado limitante del muestreo global se obtuvo incluyendo a aquellas con valores de hiperinsulinemia (Insulinemia $\geq 23,46 \mu\text{U}/\text{ml}$).

Muestra: Para la ejecución de los análisis bioquímicos en los que se basó este estudio, la separación de suero fue realizada invariablemente dentro de los 30 minutos posteriores a la extracción. Las muestras obtenidas exclusivamente por personal (técnicos y/o bioquímicos) del LCRyP, con experiencia en el manejo de las mismas y manteniendo todas las normas de higiene y seguridad necesarias al efecto.

Con los resultados de los análisis propuestos en este estudio, se realizó un *muestreo crítico, deliberado*, en pacientes ambulatorios, basado en valores de referencia de Insulinemia borderline y mayores a 23,46 µUI/ml. Del total (n=232) de muestras analizadas, se incluyeron solamente 92 en el grupo de estudio. Estas últimas se corresponden con muestras sometidas a los siguientes criterios:

A) de inclusión: Los valores estudiados se corresponden a pacientes entre cuyos pedidos médicos se verificaron valores de hiperinsulinemia (Insulinemia \geq 23,46 µUI/ml), y que además, el pedido médico incluía Glucemia y Trigliceridemia.

B) de exclusión: Muestras cuyos valores de Insulinemia fueron menores a 23,46 µUI/ml.

PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS

Condiciones previas a la toma de muestra:

Los pacientes concurrieron al laboratorio realizando un ayuno de al menos 8 hs, sin haber realizado ejercicios de alto impacto 24h antes.

Materiales para la toma de muestra:

Las extracciones sanguíneas se realizaron con agujas nuevas y estériles, con cada paciente. Cada box de extracción cuenta con los materiales necesarios para la toma de muestra: guantes, lazos, algodón, jeringas, agujas, alcohol, descartadores, etc.

Procesamiento de las muestras:

Cada muestra de sangre se colocó en tubos con tapa roja y sin anticoagulante. Se transportaron en gradillas con los tubos colocados de forma vertical, para evitar derrames, contaminación o hemólisis. Posteriormente, fueron llevadas al baño María (a 37 °C). Antes

de los 30 minutos posteriores a cada extracción, fueron centrifugadas a 2000 rpm durante 5 minutos, para obtener el suero.

En el análisis serológico se utilizaron:

- Para la determinación de Glucemia y Triglicéridos, un Analizador de Bioquímica clínica *ARCHITECT c4000 (Abbott Lab)*.
- Para la determinación de INS se utilizó el Analizador automático inmunológico por quimioluminiscencia *Maglumi™ 800 (Snibe Co., Ltd)*.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Para el análisis de datos se utilizó el programa *Microsoft Office Excel 2013*. Los resultados obtenidos fueron representados por medio de tablas y gráficos (según variables estudiadas). Los datos recuperados para el análisis, incluyeron:

- Número de protocolo asignado en el laboratorio.
- Fecha de toma de muestra.
- Sexo.
- Edad .
- Diagnóstico.
- Resultados obtenidos (Glucemia, Triglicéridos, INS).
- El universo total de muestras incluídas, en primera instancia, fue igual a 232.
- Posteriormente, en la población de estudio se incluyeron 92 muestras.

Según los parámetros analizados, los resultados fueron los siguientes:

1- Sexo:

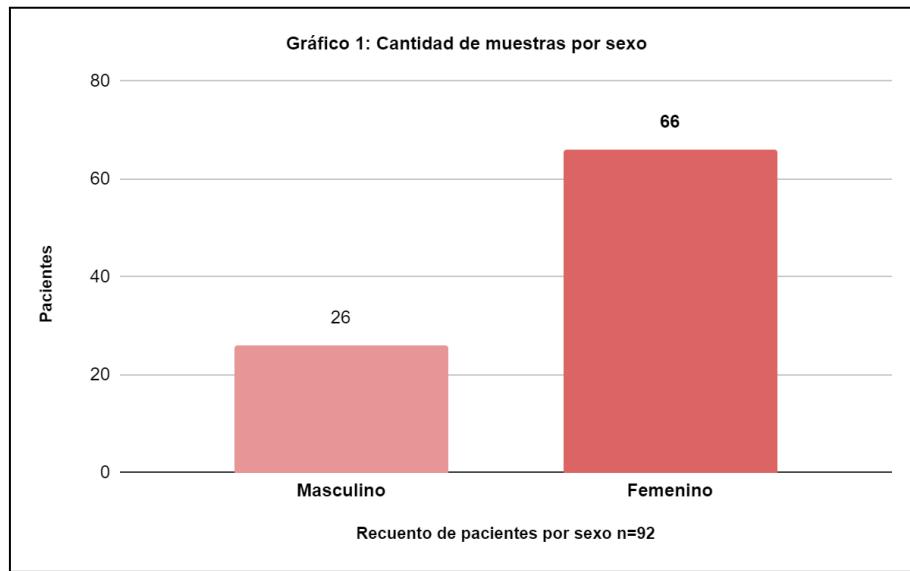


Gráfico 1: Cantidad de muestras por sexo. El análisis de este trabajo se inició con la división por sexo del total de pacientes. Finalmente, la población de estudio se conformó con 26 pacientes masculinos, y 66 pacientes femeninos.

2- Edad

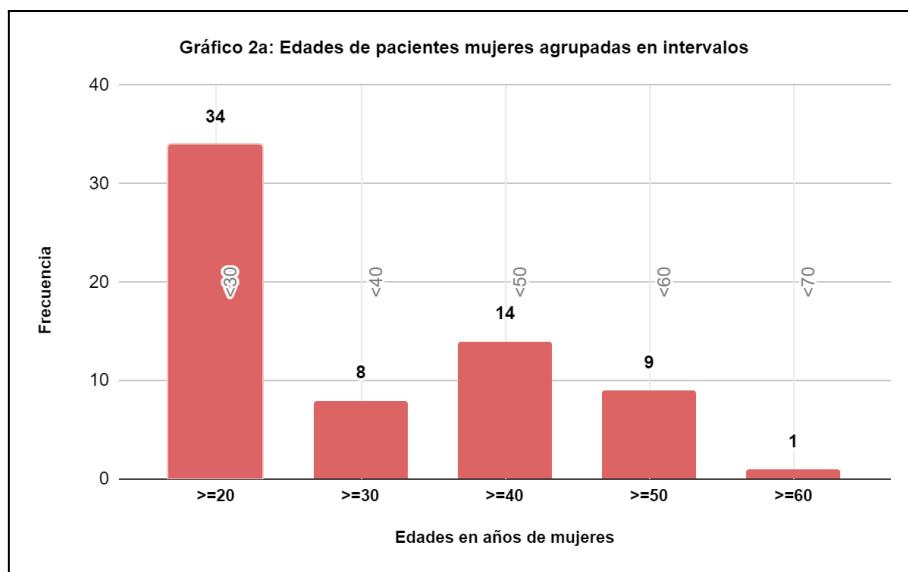


Gráfico 2a: Edades de pacientes mujeres agrupadas en intervalos. En cuanto al análisis de las edades, en el grupo de mujeres (n=66) se obtuvo un promedio de edad de (34 ± 12)

años. Como puede observarse, la mayoría de las participantes del sexo femenino se encontraban en el rango de 20 a 30 años de edad.

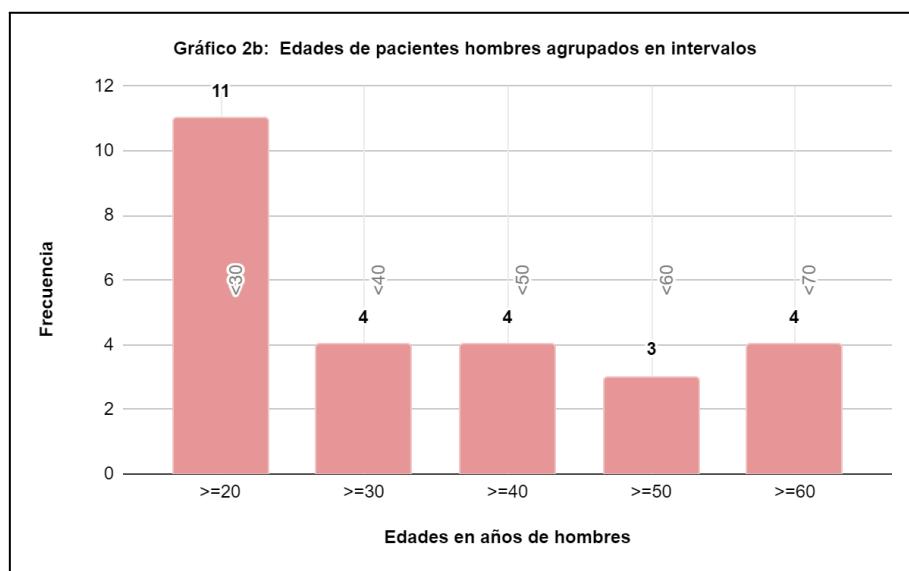


Gráfico 2b: Edades de pacientes hombres agrupados en intervalos. De forma casi coincidente con el grupo de mujeres, en el grupo masculino ($n=26$) se registró un promedio de edad de (37 ± 15) años. Así mismo, la mayoría de los pacientes masculinos (como en el caso de las mujeres) también pertenecían al rango de edades de 20 a 30 años.

En ambos sexos, el grupo de edad más afectado por la hiperinsulinemia corresponde al rango más joven de la población estudiada.

3- Medidas Estadísticas:

	Glucemia en ayunas (70 - 100 mg/dl)	Triglicéridos en ayunas (h / 150 mg/dl)	Insulina en Ayunas (4.03 - 23.46 µUI/ml)
Media	101	163	38
Desviación estándar	35	92	22
Mínimo	66	51	24
Máximo	305	585	139

Tabla 1: Medidas estadísticas de Glucemia, Triglicéridos e Insulina de la población de estudio.

4- Frecuencias Estadísticas:

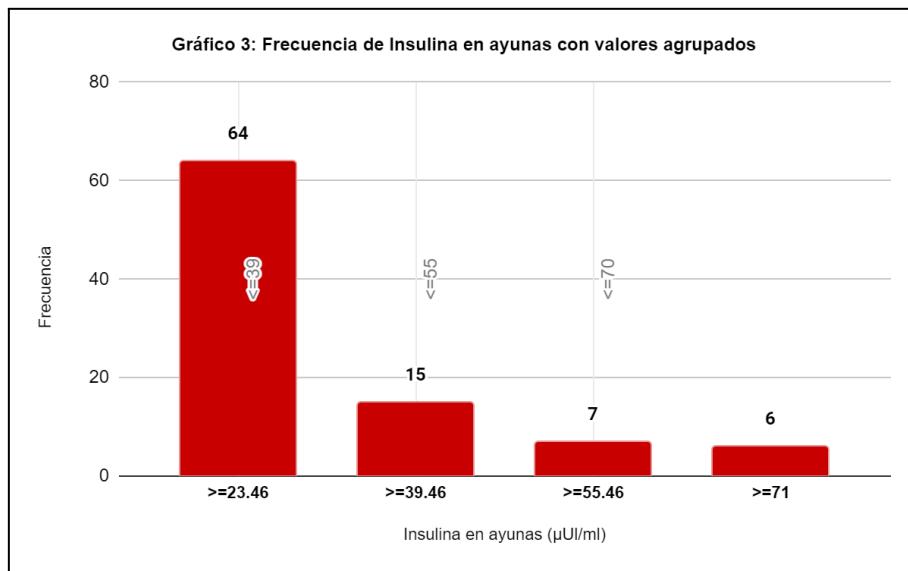


Gráfico 3: Frecuencia de Insulina en ayunas con valores agrupados. La condición para seleccionar los pacientes como población de estudio, fue la presencia de hiperinsulinemia ($> 23,46 \mu\text{UI}/\text{ml}$) reflejada en este gráfico. Se observa la presencia de posibles pacientes que aún no expresan fallas en el metabolismo glucídico y lipídico, pero que ya se observa alteraciones en el mecanismo de la INS. Es una hormona estratégica que ayudará a prevenir una futura enfermedad metabólica, mediante su detección temprana.

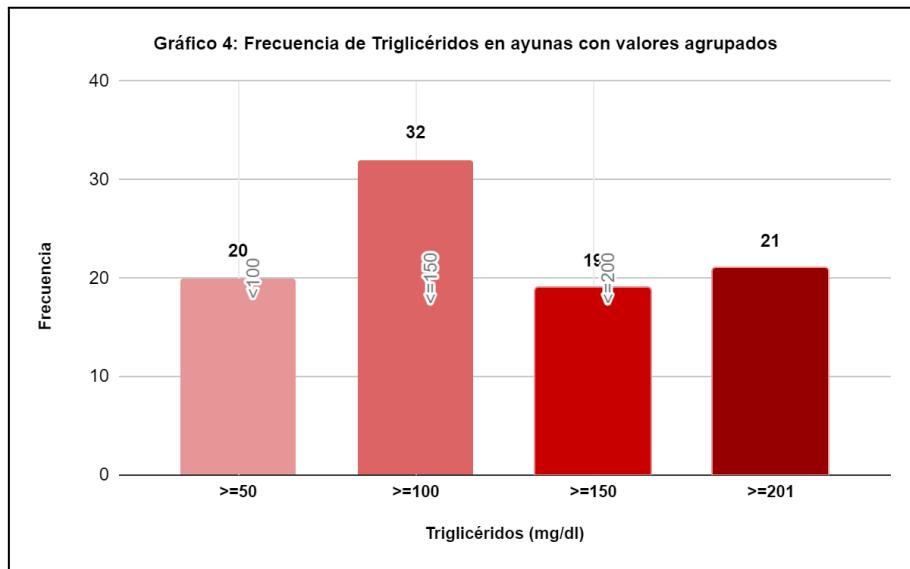


Gráfico 4: Frecuencia de Triglicéridos en ayunas con valores agrupados. La RI es un estado metabólico, considerado como el disparador de un conjunto de desarreglos orgánicos conocidos como síndrome metabólico, que se caracteriza por un manejo deficiente de los hidratos de carbono y las grasas. Así es que, teniendo en cuenta este último aspecto, se consideró de gran importancia el poder estudiar la posible coexistencia de la hipertrigliceridemia como factor representativo de dislipidemia en los participantes del estudio. Al efecto, se obtuvieron los valores de Triglicéridos presentes en el suero, y los valores fueron divididos en intervalos de importancia, utilizando como referencia el parámetro establecido en el LCRyP (TG normal= hasta 150 mg/dl). De esta manera, los resultados obtenidos, muestran que los pacientes que presentaron valores considerados como normales, fueron los de mayor frecuencia en la población de estudio. Continúan, en menor orden, los pacientes que presentan valores un poco por encima del punto de corte (>150 mg/dl). Por último, se asocian a aquellos pacientes que ya presentan una franca dislipidemia (e hiperglucemias, en algunos casos), sumada a la hiperinsulinemia.

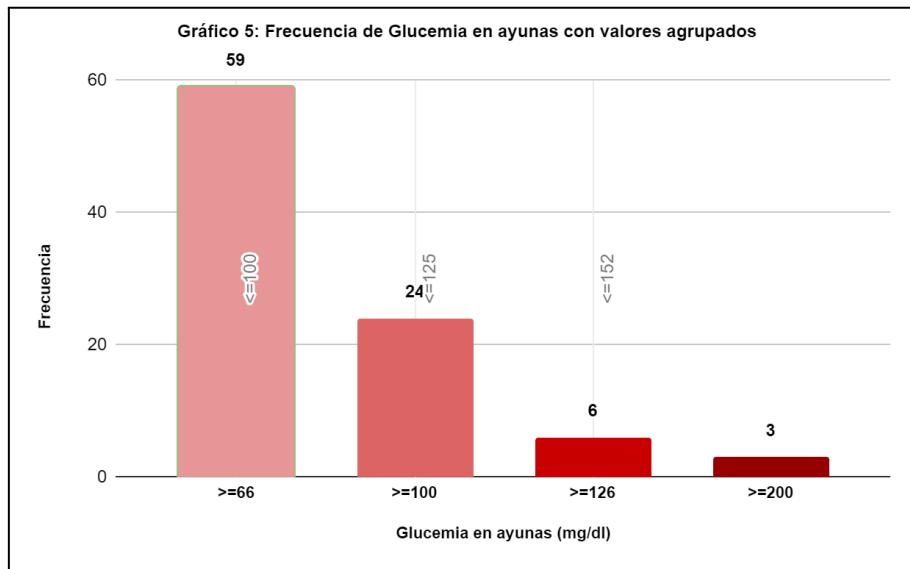


Gráfico 5: Frecuencia de Glucemia en ayunas con valores agrupados. Una vez detectado el grupo de pacientes con hiperinsulinemia, se analizaron los valores de glucemia en ellos. Se puede observar que el grupo con valores de rango normal o de referencia (70-100 mg/dl), constituyeron la mayor parte de la población. En contraste, los pacientes hiperinsulinémicos que presentaban valores de glucemia alterados (100-125 mg/dl) en ayunas, se presentaron en menor cantidad que el grupo con valores normales. Con menor frecuencia, se encontraron a pacientes con valores de glucemia (≥ 126 mg/dl) en ayunas, correspondientes a pacientes con diagnóstico declarado de DM tipo 2, y otros trastornos metabólicos.

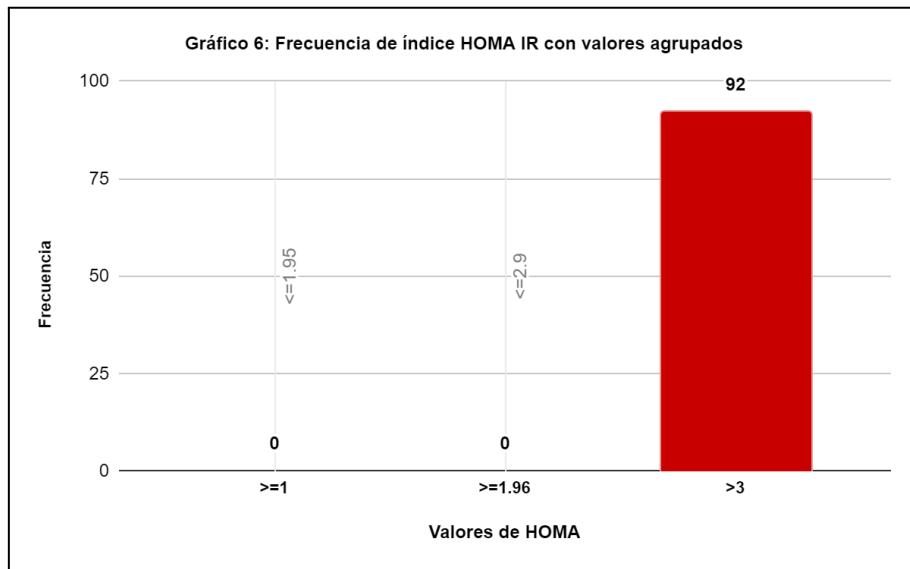


Gráfico 6: Frecuencia del índice HOMA IR con valores agrupados. En este estudio, se obtuvo el índice HOMA para cada paciente. Así, puede visualizarse que todos los pacientes (n=92) estudiados presentaban valores superiores a 3. Por lo tanto, pertenecen al grupo de pacientes considerados como Resistentes a la INS.

5- Patologías presentes en los pacientes:

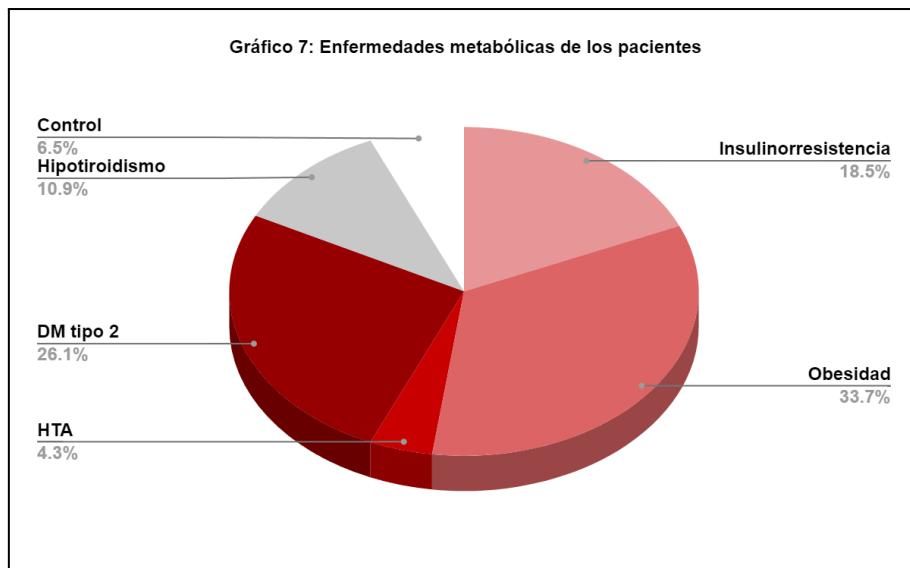


Gráfico 7: Enfermedades metabólicas de los pacientes. La RI es un estado metabólico, considerado como el disparador de un conjunto de enfermedades metabólicas crónicas. Así,

en correspondencia con lo dicho, puede observarse que la obesidad se presenta en 33,7% de los participantes. En segundo lugar, se presenta la DM tipo 2 (26.1%). En tercer lugar, se encuentran aquellos pacientes que están iniciando de manera incipiente o fueron recientemente diagnosticados con RI (18,5%). En menor proporción aún, se encuentran los participantes que presentan trastornos como Hipotiroidismo (10,9%), con HTA (4,3%). Por último, se encuentra el grupo denominado Control, en los cuales la Hiperinsulinemia representa un hallazgo de laboratorio.

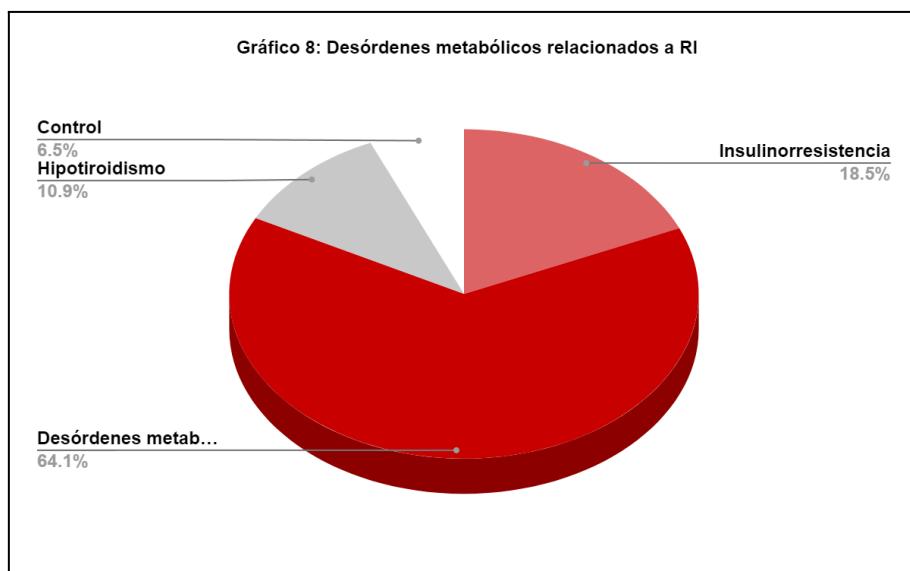


Gráfico 8: Desórdenes metabólicos relacionados a la RI. Al agrupar a todas las patologías que puedan relacionarse como provocadas por la RI, puede notarse que constituyen un porcentaje elevado, igual al 64%. Si a ese grupo incluimos a los pacientes que ya presentan Insulinoresistencia (18,5%), vemos que en un futuro próximo el 82,6%, y de no mediar un adecuado tratamiento, presentarán algún tipo de desorden metabólico.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo, en principio, se recolectaron datos de 232 pacientes del área "Endocrinología y Marcadores tumorales" del LCRyP, durante el periodo que incluye a los meses desde enero a septiembre del año 2023. Dentro de este conjunto, se constató la existencia de un total de 92 pacientes con hiperinsulinemia, los cuales representaron la población de estudio. En este grupo, también se estudiaron los valores de los análisis de Glucemia y Trigliceridemia. Mediante el análisis realizado puede observarse que:

1- Se constató una mayor cantidad de pacientes femeninos, respecto de los masculinos (gráfico 1). Esta disparidad, entre ambos grupos, posiblemente pueda deberse a las diferentes influencias hormonales, a las que se encuentran expuestos cada conjunto (Santos Marcos et al. 2023).

2- Respecto del análisis de edades, el resultado obtenido resulta un tanto sorpresivo. En principio, cabría esperarse una mayor frecuencia de los individuos que cuenten con más años de vida, a la fecha del estudio. Presumiblemente, ellos ya podrían estar afectados por los efectos (enfermedades metabólicas y/o síndrome metabólico) desencadenados a partir del mantenimiento sostenido en el tiempo de niveles elevados de insulinermia. Por el contrario, el rango etario que aparece con mayor frecuencia (para ambos sexos), es el que incluye a los más jóvenes (de 20 a 30 años) (gráficos 2a y 2b). En efecto, y a pesar de que la hiperinsulinemia ya se encuentra presente, todavía en este grupo de personas no se verifican (al momento del estudio) algún otro resultado bioquímico alterado, o síntomas propios de algún tipo de trastorno metabólico. Este hallazgo parecería indicar que en estos individuos la RI ya se encuentra instalada, como producto del consumo excesivo e ininterrumpido de hidratos de carbono, durante las dos primeras décadas de vida. Por otro lado, y aunque en el presente estudio aparecen como normales, no se descarta que

algunos de los pacientes ya estén manejando niveles plasmáticos patológicos de lípidos y/o glúcidos. Deberá tenerse en cuenta el cuidado pre analítico que conllevan dichos análisis. Refrendando este análisis, la Federación Argentina de Diabetes (FAD) menciona que se ha detectado un alarmante incremento de DM-2 en niños, niñas y adolescentes. El preocupante incremento de diabetes en la población infanto-juvenil suele presentarse a menudo junto a un aumento de la obesidad, precedido de la instalación de la RI. Este fenómeno citado por la FAD, también es observado de manera similar, a nivel mundial (Kabakian, 2023). En este sentido, lo anteriormente dicho (en niños y adolescentes), podría extrapolarse con justa razón a los resultados encontrados en este estudio, en personas de mayor edad (adultos jóvenes).

3- Puede observarse además que dentro de los pacientes estudiados (todos con hiperinsulinemia- gráfico 3), la mayoría no refleja aún alteraciones en sus perfiles lipídicos (gráfico 4) y/o glucídicos (gráfico 5). Es decir que, esas personas ya tienen establecido un mecanismo de RI, aunque no tengan alterados, en ayunas: los metabolismos de lípidos (evaluados por la Trigliceridemia), ni de glúcidos (evaluados por la Glucemia). Así mismo, y a modo de confirmación, se evaluó el índice HOMA IR (gráfico 6). Pudo verificarse así, que todas las personas del grupo de estudio pertenecen (en menor o mayor grado) a un grupo de pacientes resistentes insulínicos.

4- Por todo lo anteriormente dicho, es posible prever que si las personas que fueron incluídas en el presente trabajo (con Insulinemia elevada, normolipídicos y euglucémicos) no toman medidas con sus hábitos alimenticios y de vida para revertir la RI, mantendrán una Insulinemia elevada y sostenida en el tiempo, que terminará en la expresión de alguna enfermedad metabólica, o un síndrome metabólico (gráficos 7 y 8).

En resumen, debería prestarse más atención a la INS como predictor de RI. Esta hormona pancreática, actúa permitiendo el ingreso de las moléculas de GLU al interior de

las células, para ser utilizadas como fuente de energía. El mecanismo de la RI es multifactorial y complejo, e involucra a diversos factores y procesos biológicos. La genética predispone a una persona a desarrollarla, pero la epigenética (años de dieta alta en hidratos de carbono, productos ultraprocesados, sedentarismo, stress, etc.) resultan cruciales en la implementación de la misma. La RI es (en conjunto) la causa central del posterior desarrollo de: Obesidad, Hígado graso, SM, DM-2, e HTA (y otras enfermedades cardiovasculares). El tratamiento suele incluir cambios en el estilo de vida, como la pérdida de peso, ejercicio regular y una dieta saludable. Éstas acciones conjuntas tienen por objetivo mejorar o reconvertir los estados metabólicos provocados por la RI, revirtiendo a la propia RI. En algunos casos, también se la puede tratar de modo paliativo, con medicamentos que mejoren la sensibilidad de las células a la INS, como los hipoglucemiantes orales utilizados en la DM-2 (Kunes et al. 2015).

Así mismo, resulta necesario resaltar la importancia de poder detectar en edades tempranas los desencadenantes de futuras enfermedades metabólicas crónicas. Un desencadenante clave es el ritmo de vida actual, que incluye casi siempre el *Multitasking*. Esta necesidad o mala costumbre de realizar varias tareas a la vez, ha desarrollado en muchas personas la liberación persistente de mayores concentraciones de Cortisol (hormona asociada al estrés), que incide sobre el aumento de la liberación pancreática de INS. Por otro lado, y asociado a la necesidad de utilizar menos tiempo en nuestra alimentación (preparación y calidad de las mismas), ha cambiado para peor el patrón de consumo de alimentos, casi a nivel global (Joseph y Golden, 2017). Así, desde la década de los años 50, con un aumento exponencial desde los 70, se ha aumentado masivamente la producción, el marketing y el acceso a las bebidas y alimentos ultraprocesados. Actualmente, esta clase de alimentos representan la mayor fuente de ingesta energética en muchos países, como ocurre fundamentalmente en los occidentales. Estos, en su mayoría, tienen añadidas en concentraciones diferentes, hidratos de carbono (ej: azúcares como

GLU), saborizantes (ej: JMAF o jarabe de maíz de alta fructosa), harinas (fuentes de hidratos de carbono), y/o edulcorantes añadidos (también azúcares, como la sucralosa). La industria alimenticia, en su afán de vender más, produce combinaciones sensoriales en los alimentos buscando volverlos menos saciantes, para provocar un consumo excesivo de los mismos. Las dietas con alta proporción de alimentos ultraprocesados tienden a ser de baja calidad nutricional, y cada vez hay más evidencia científica de que afectan a la salud (Martí et al. 2021). Todos los productos adicionados en los alimentos ultraprocesados, son alimentos considerados “atractivos” por la comodidad que ofrecen; e hiper palatables, pero, elevan la concentración plasmática de la INS.

Este cambio en el patrón de alimentación, con más frecuencia, se encuentra asociado a un consumo diario aumentado y desordenado de alimentos ultraprocesados, y al sedentarismo (que aumenta con la edad, y es cada vez más visible en niños y adolescentes). Las sociedades no poseen conocimientos suficientes y es así que una gran proporción de los habitantes sin saber, activan diariamente uno o más de estos elementos. La consecuencia será el establecimiento de un proceso de RI, que se traducirá en un aumento de las tasas de obesidad, y favorecerá la existencia de entornos obesogénicos. En aquellos individuos, en quienes éstos mecanismos fisiopatológicos se perpetúen en el tiempo, se podrán evidenciar diversas patologías. Entre las más comúnmente encontradas están la DM-2, la HTA, y el SM.

Cabe aclarar que el presente estudio tiene limitaciones, que se presentan debido al diseño del mismo, no pudiendo establecer causalidades, ni evaluar otras posibles variables (antecedentes familiares, etnia, actividad física, estatus nutricional y socioeconómico, entre otras) que pudieran afectar a las muestras plasmáticas obtenidas de los participantes. Además, este estudio se realizó en un único centro, y con una búsqueda de información acotada a los intereses del trabajo.

El éxito del enfoque al tratamiento sobre los pacientes estudiados, recae en la responsabilidad asignada por cada paciente a los mecanismos de regulación de los niveles de glucemia, que incluyen tanto el autocontrol de la ingesta alimentaria y la actividad física, llegando incluso al trabajo espiritual como herramienta significativa en algunos pacientes, elementos que no se restringen a la mera educación sobre la condición, características y necesidades asociadas, sino que, tienen más que ver con el desarrollo de una conciencia de enfermedad clara, sumado a patrones de acción concretos, que le permite al individuo hacerse cargo de su propio proceso de mejora, con la seguridad de contar con un espacio estructurado y constante de apoyo (Gonzalez Burboa et al. 2019).

Si bien, para refrendar lo estudiado, hace falta el análisis de un mayor número de pacientes, los resultados de este trabajo concuerdan con los que se pueden obtener ampliamente en la literatura científica. Establece claramente que la RI es una condición por la cuál las células del cuerpo no responden adecuadamente a la INS, y la persistencia de este mecanismo de refractariedad constituye un verdadero peligro para la salud de la sociedad actual.

CONCLUSIÓN

El presente trabajo pone de relevancia la importancia del análisis integral combinado entre la comprensión de parámetros bioquímicos y clínicos, el dominio de técnicas avanzadas y el uso de análisis estadísticos informáticos. Constituye una optimización posible de realizar, para la detección temprana y el seguimiento de pacientes con riesgo de desarrollar EM. Sus resultados pueden extrapolarse para fortalecer estrategias preventivas y terapéuticas médicas, bioquímicas y alimenticias, que mejoren la salud de nuestra sociedad. Mediante el análisis cuidadoso de los datos obtenidos, se lograron interpretar parámetros clínicos, particularmente glucemia y trigliceridemia, en relación con la hiperinsulinemia presente en los pacientes estudiados. En base a los diagnósticos presuntivos de los médicos, se pudieron identificar y confirmar condiciones pre metabólicas y metabólicas, en este grupo de pacientes del LCRyP. Especialmente, se pudo determinar la capacidad para interpretar a la INS, (o hiperinsulinemia), como un predictor de EM, aún sin contar con la presencia de síntomas o diagnóstico clínico aparente.

Como CONCLUSIÓN de este trabajo puede decirse que: el estudio plasmático de la INS basal rutinaria, es un mejor predictor de la presencia o inicio de RI, que el análisis de glúcidos o lípidos plasmáticos, en general. Actualmente, su utilidad se encuentra infravalorada. A nivel médico y social, la INS podría constituir una herramienta importantísima para la reversión o corrección de la epidemia mundial actual, que constituyen los trastornos metabólicos.

REFERENCIAS

- Aguilar Salinas, Carlos A. y Aschner, Pablo. (2019). Epidemiología de la diabetes tipo 2 en Latinoamérica. Revista de la Asociación Latinoamericana de diabetes. 2248-6518, 2-6.
https://www.revistaalad.com/guias/5600AX191_guias_alad_2019.pdf
- Ahmed, B., Sultana, R., & Greene, M. W. (2021). Adipose tissue and insulin resistance in obese. Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie, 137, 111315.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33561645/>
- Batista, T. M., Haider, N., & Kahn, C. R. (2022). Correction to: Defining the underlying defect in insulin action in type 2 diabetes. *Diabetologia*, 65(6), 1064.
<https://doi.org/10.1007/s00125-022-05684-8>
- Blanco, Antonio. y Blanco, Gustavo. (2016). Bases bioquímicas de la Endocrinología. Ciudad autónoma de Buenos Aires (10a Ed), *Química Biológica* (pp. 508 - 571). El Ateneo.
- Carvajal Carvajal, C. (2017). Los triglicéridos y la aterogénesis. *Medicina legal de Costa Rica*, 34(2), 82–89. https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152017000200082
- Chandrasekaran, P., Weiskirchen, R. Mecanismos celulares y moleculares de resistencia a la insulina. *actual. Microambiente tisular. Rep.* (2024).
<https://doi.org/10.1007/s43152-024-00056-3>
- Chen, J., Huang, Y., Liu, C., Chi, J., Wang, Y., & Xu, L. (2023). The role of C-peptide in diabetes and its complications: an updated review. *Frontiers in endocrinology*, 14, 1256093.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1256093>
- Crespo, Javier., Iruzubieta, Paula., Arias-Loste, María Teresa., Fernández-Lanas, Tatiana., Rasines, Laura. (2022). Historia natural y patogenia de la enfermedad de hígado graso no alcohólico. Calleja José Luis y Turnes Juan (editores), EHGNA. *Enfermedad de hígado graso no alcohólico: un estudio integral Asociación Española para el Estudio del Hígado* (pp 61 -84) <https://aeeh.es/wp-content/uploads/2022/02/EHGNA-pdf.pdf>

- Del Valle Mendoza, Juana., y Cornejo Tapia, Ángela (2014). Preparación de una curva de calibración. Colorimetría. *Bioquímica, Biología Celular y Molecular II*. <http://hdl.handle.net/10757/320255>
- Drew, L. (2017). Fighting the fatty liver. *Nature*, 550(7675), S102–S103. <https://doi.org/10.1038/550s102a>
- Fahed, G., Aoun, L., Bou Zerdan, M., Allam, S., Bou Zerdan, M., Bouferraou, Y., & Assi, H. I. (2022). Metabolic Syndrome: Updates on Pathophysiology and Management in 2021. *International journal of molecular sciences*, 23(2), 786. <https://doi.org/10.3390/ijms23020786>
- Fernández Gianotti, Tomás, y Pirola, Carlos José. (2015). Epigenética y síndrome metabólico. *Revista argentina de endocrinología y metabolismo*, 52(1), 35-44. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-30342015000100006&lng=es&tlang=es.
- Freeman, A. M., Acevedo, L. A., & Pennings, N. (2023). Insulin Resistance. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29939616/>
- Galicia-García U, Benito-Vicente A, Jebari S, Larrea-Sebal A, Siddiqi H, Uribe KB, Ostolaza H, Martín C. Fisiopatología de la diabetes mellitus tipo 2. *Revista Internacional de Ciencias Moleculares*. 2020; 21(17):6275. <https://doi.org/10.3390/ijms21176275>
- González-Burboa, A., Acevedo Cossio, C., Vera-Calzaretta, A., Villaseca-Silva, P., Müller-Ortiz, H., Páez Rovira, D., Pedreros Rosales, C., Mealberquilla Néndez-Asenjo, Á., & Otero Puime, Á. (2019). ¿Son efectivas las intervenciones psicológicas para mejorar el control de la Diabetes Mellitus tipo 2 en adultos?: una revisión sistemática y metaanálisis [Psychological interventions for patients with type 2 diabetes mellitus. A systematic review and meta-analysis]. *Revista médica de Chile*, 147(11), 1423–1436. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872019001101423>
- Gregor, M. F., Yang, L., Fabbrini, E., Mohammed, B. S., Eagon, J. C., Hotamisligil, G. S., & Klein, S. (2009). Endoplasmic reticulum stress is reduced in tissues of obese subjects after weight loss. *Diabetes*, 58(3), 693–700. <https://doi.org/10.2337/db08-1220>
- Gutiérrez-Rodelo, C., & Roura-Guiberna y Jesús Alberto Olivares-Reyes, A. (s/f). *Mecanismos Moleculares de la Resistencia a la Insulina: Una Actualización.* de https://www.anmm.org.mx/GMM/2017/n2/GMM_153_2017_2_214-228.pdf

- Ibarretxe, D., & Masana, L. (2021). Metabolismo de los triglicéridos y clasificación de las hipertrigliceridemias. *Clínica e investigación en arteriosclerosis: publicación oficial de la Sociedad Española de Arteriosclerosis*, 33, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.arteri.2021.02.004>
- James, D.E., Stöckli, J. y Birnbaum, M.J. Etiología y panorama molecular de la resistencia a la insulina. *Nat Rev Mol Cell Biol* 22, 751–771 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00390-6>
- Jiménez-Franco L, Gutiérrez-Pérez D, León-Regal M, González-Martínez C, Baños-Leyva L, Matos-Olivero A. Mecanismos fisiopatológicos de asociación entre síndrome metabólico e hipertensión arterial: una actualización. *Revista Finlay [revista en Internet]*. 2023; 13(1):[aprox. 8 p.]. Disponible en: <https://revfinlay.sld.cu/index.php/finlay/article/view/1078>
- Joseph, J. J., & Golden, S. H. (2017). Cortisol dysregulation: the bidirectional link between stress, depression, and type 2 diabetes mellitus. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1391(1), 20–34. <https://doi.org/10.1111/nyas.13217>
- Kabakian, Laura., Laufer, Judit. y Jordana, Dorfman. (2023). Qué sucede con la diabetes tipo 2 en nuestras niñas y niños. *Nuestra Voz. Revista de la Federación Argentina de Diabetes*. Edición N° 83) <https://www.fad.org.ar/wp-content/uploads/2023/05/Nuestra-Voz-Num-83.pdf>
- Kunes, J., Vanecková, I., Mikulášková, B., Behuliak, M., Maletínská, L., y Zicha, J. (2015). Epigenetics and a new look on metabolic syndrome. *Physiological research*, 64(5), 611–620. <https://doi.org/10.33549/physiolres.933174>
- Lazarus, Jeffrey (2022) La Enfermedad de Hígado Graso no Alcohólico: Una epidemia global silenciosa. Calleja José Luis y Turnes Juan (editores), EHGNA. *Enfermedad de hígado graso no alcohólico: un estudio integral Asociación Española para el Estudio del Hígado* (pp 15 -32) <https://aeeh.es/wp-content/uploads/2022/02/EHGNA-pdf.pdf>
- Lee, S.-H., Park, S.-Y. y Choi, CS (2022). Resistencia a la insulina: de mecanismos a estrategias terapéuticas. *Revista de diabetes y metabolismo*, 46 (1), 15–37. <https://doi.org/10.4093/dmj.2021.0280>
- Lupo Maela., y Rigalli Alfredo. (2021). Espectroscopía. *Fundamentos teórico prácticos para auxiliares de laboratorio*.

<https://rephip.unr.edu.ar/server/api/core/bitstreams/da12a863-d8e9-4368-a282-ebb0527a2bc4/content>

-Marusic, M., Paic, M., Knobloch, M., & Liberati Prso, A. M. (2021). NAFLD, Insulin Resistance, and Diabetes Mellitus Type 2. *Canadian journal of gastroenterology & hepatology*, 2021, 6613827. <https://doi.org/10.1155/2021/6613827>

-Martí Del Moral, A., Calvo, C., & Martínez, A. (2021). Consumo de alimentos ultraprocesados y obesidad: una revisión sistemática [Ultra-processed food consumption and obesity-a systematic review]. *Nutrición hospitalaria*, 38(1), 177–185. <https://doi.org/10.20960/nh.03151>

-Miguel Soca PE. Evaluación de la resistencia a la insulina [Assessment of insulin resistance]. Aten Primaria. 2010 Sep;42(9):489-90. Spanish: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7024449/>

-Olivares Reyes, J A. y Arellano Plancarte, A. (2008). Bases moleculares de las acciones de la insulina. 27(1): 9-18.

<https://biblat.unam.mx/hevila/REBRevistadeeducacionbioquimica/2008/vol27/no1/3.pdf>

-Partearroyo, Teresa, Sánchez Campayo, Elena, & Varela Moreiras, Gregorio. (2013). El azúcar en los distintos ciclos de la vida: desde la infancia hasta la vejez. *Nutrición Hospitalaria*, 28(Supl. 4), 40-47. Recuperado en 16 de abril de 2024, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112013001000005&lng=es&tlng=es.

-Posner B. I. (2017). Insulin Signalling: The Inside Story. *Canadian journal of diabetes*, 41(1), 108–113. <https://doi.org/10.1016/j.jcjd.2016.07.002>

-Puchulu, Félix M (2008). Síndrome Metabólico. Separata Montpellier. 16(4). <https://www.montpellier.com.ar/Uploads/Separatas/sepSindromemetabEndocrinD.pdf>

-Rezzani R, Franco C. Hígado, estrés oxidativo y síndromes metabólicos. *Nutrientes*. 2021; 13(2):301. <https://doi.org/10.3390/nu13020301>

-Roden, M., & Shulman, G. I. (2019). The integrative biology of type 2 diabetes. *Nature*, 576(7785), 51–60. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1797-8>

-Rodríguez, AJ (2002). Triglicéridos, “el enemigo olvidado”. *Revista costarricense de cardiología*,(1),28–31.

https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-41422002000100006

-Saltiel A. R. (2021). Insulin signaling in health and disease. *The Journal of clinical investigation*, 131(1), e142241. <https://doi.org/10.1172/JCI142241>

-Santoro, A., McGraw, T. y Kahn, B (2021). Acción de la insulina en adipocitos, remodelación del tejido adiposo y efectos sistémicos. *Metabolismo celular* , 33 (4), 748–757. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.03.019>

-Santos Lozano, E. (2022). Resistencia a Insulina: Revisión de literatura. *Revista Médica Hondureña*, 90(1), 63–70. <https://doi.org/10.5377/rmh.v90i1.13824>

-Santos-Marcos, J. A., Mora-Ortiz, M., Tena-Sempere, M., Lopez-Miranda, J., & Camargo, A. (2023). Interaction between gut microbiota and sex hormones and their relation to sexual dimorphism in metabolic diseases. *Biology of sex differences*, 14(1), 4. <https://doi.org/10.1186/s13293-023-00490-2>

-Soleimani M, Barone S, Luo H, Zahedi K. Patogénesis de la hipertensión en el síndrome metabólico: el papel de la fructosa y la sal. *Revista Internacional de Ciencias Moleculares* . 2023; 24(5):4294. <https://doi.org/10.3390/ijms24054294>

-Schiaffino S, Mammucari C. Regulation of skeletal muscle growth by the IGF1-Akt/PKB pathway: insights from genetic models. *Skelet Muscle*. 2011 Jan 24;1(1):4. [Regulation of skeletal muscle growth by the IGF1-Akt/PKB pathway: insights from genetic models - PubMed \(nih.gov\)](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21308000/)

-Suckale, J., & Solimena, M. (2008). Pancreas islets in metabolic signaling--focus on the beta-cell. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library*, 13, 7156–7171. <https://doi.org/10.2741/3218>

-Suescum, M. O. y Gonzalez Calvar, S. I. (2005) Exploración de la Función Endocrina. Tipos de Ensayos. *Fisiopatología Endocrina: Bioquímica y Métodos Diagnósticos* (pp. 11-27). Separata Montpellier. <https://www.montpellier.com.ar/Uploads/Separatas/ENDO3.PDF>

-Tahapary, D. L., Pratisthita, L. B., Fitri, N. A., Marcella, C., Wafa, S., Kurniawan, F., Rizka, A., Tarigan, T. J. E., Harbuwono, D. S., Purnamasari, D., & Soewondo, P. (2022). Challenges

in the diagnosis of insulin resistance: Focusing on the role of HOMA-IR and Triglyceride/glucose index. *Diabetes & metabolic syndrome*, 16(8), 102581.
<https://doi.org/10.1016/j.dsx.2022.102581>

-Valaiyapathi, B., Gower, B., & Ashraf, A. P. (2020). Pathophysiology of Type 2 Diabetes in Children and Adolescents. *Current diabetes reviews*, 16(3), 220–229.
<https://doi.org/10.2174/1573399814666180608074510>

-Vázquez-Jiménez, J. G., Roura-Guiberna, A., Jiménez-Mena, L. R., & Olivares-Reyes, J. A. (2017). El papel de los ácidos grasos libres en la resistencia a la insulina. *Gaceta médica de México*, 153(7), 852–863. <https://doi.org/10.24875/GMM.17002714>

-Velásquez, Sergio, Velásquez, Ronny, Leyton, Miguel, Borjas, José, & Custodio, Ángel. (2013). Modelado del control de la regulación de Glucosa. *Universidad, Ciencia y Tecnología*, 17(66), 11-18. Recuperado en 16 de abril de 2024, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-48212013000100002&lng=es&t lng=es

-Venugopal, S. K., Mowery, M. L., & Jialal, I. (2023). Biochemistry, C Peptide. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30252282/>

-Washburn RL, Mueller K, Kaur G, Moreno T, Moustaid-Moussa N, Ramalingam L, Dufour JM. Péptido C como terapia para la diabetes mellitus tipo 1. *Biomedicinas* . 2021; 9(3):270. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9030270>

-Wei, Y., Quan, L., Zhou, T., Du, G., & Jiang, S. (2021). The relationship between different C-peptide level and insulin dose of insulin pump. *Nutrition & diabetes*, 11(1), 7. <https://doi.org/10.1038/s41387-020-00148-7>

-Wysham, C., & Shubrook, J. (2020). Beta-cell failure in type 2 diabetes: mechanisms, markers, and clinical implications. *Postgraduate medicine*, 132(8), 676–686. <https://doi.org/10.1080/00325481.2020.1771047>